



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Escuela Profesional de Toxicología

**Determinación de la DL50 y TL50 de los extractos
etanólicos de Tagetes minuta “Huacatay” y Lantana
camara “Lantana” sobre Spodoptera frugiperda
“gusano cogollero de maíz” en fase larval del segundo
instar, en condiciones de laboratorio**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Toxicólogo

AUTORES

Milagros Rosario CASTILLO QUISPE

Cinthy del Carmen BARRANTES ARRIOLA

ASESOR

José Antonio LLAHUILLA QUEA

Lima, Perú

2019



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Castillo, M. & Barrantes, C. Determinación de la DL50 y TL50 de los extractos etanólicos de *Tagetes minuta* “Huacatay” y *Lantana camara* “Lantana” sobre *Spodoptera frugiperda* “gusano cogollero de maíz” en fase larval del segundo instar, en condiciones de laboratorio [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional de Toxicología; 2019.

HOJA DE METADATOS COMPLEMENTARIOS

INFORMACIÓN GENERAL	
Título del proyecto	Determinación de la DL50 y tI50 DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS DE <i>Tagetes minuta</i> "huacatay" y <i>Lantana camara</i> "lantana" sobre <i>Spodoptera frugiperda</i> "gusano cogollero de maíz" en fase larval del segundo instar, en condiciones de laboratorio.
Área de investigación	Ciencias Bioquímicas
Ubicación geográfica donde se desarrolla la investigación (incluir localidades y/o coordenadas geográficas)	Jr. Puno N° 1002, Jardín botánico Lima-Perú
Institución que financia (si corresponde)	Ninguna
Año o rango de años que abarcó	2016- 2019
DATOS DEL TESISISTA	
Apellidos y Nombres	Castillo Quispe Milagros Rosario
Número de matrícula	09040040
D.N.I	46142380
Indicar si es egresado o si aún está cursando estudios, de ser así especificar el año de estudios.	Egresada
Código ORCID (opcional)	
DATOS DEL TESISISTA	
Apellidos y Nombres	Barrantes Arriola Cinthya del Carmen
Número de matrícula	09040039
D.N.I	46549582
Indicar si es egresado o si aún está cursando estudios, de ser así especificar el año de estudios.	Egresada
Código ORCID (opcional)	
DATOS DEL ASESOR	
Apellidos y Nombres	Jose Antonio Llahuilla Quea
Código docente OA1345 Categoría: Auxiliar Clase: Tiempo completo	
Máximo grado alcanzado	Doctor en Farmacia y Bioquímica
Código ORCID (obligatorio)	0000-0002-3926-8069
Título profesional	Químico Farmacéutico
Departamento académico al que pertenece	Farmacología, Bromatología y Toxicología.
Instituto de Investigación al que pertenece	Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales "Juan de Dios Guevara"
Grupo de investigación al que pertenece, indicar si es coordinador, miembro o adherente del grupo de investigación.	Investigación Toxicológica Ambiental (ITOXAM) miembro titular Investigación Toxicológica (INVETOX) miembro asociado

(*) Según documentos oficiales de la Facultad



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Decanato



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

Determinación de la DL50 y TL50 de los extractos etanólicos de *Tagetes minuta* "huacatay" y *Lantana camara* "lantana" sobre *Spodoptera frugiperda* "gusano cogollero de maíz" en fase larval del segundo instar, en condiciones de laboratorio

Que presentan las Bachilleres en Toxicología:


**MILAGROS ROSARIO CASTILLO QUISPE Y
CINTHYA DEL CARMEN BARRANTES ARRIOLA**

Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la **SUSTENTACIÓN** de la **TESIS**, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado, y practicada la votación han obtenido la siguiente calificación:

----- Dieciocho (18) sobresaliente -----

en conformidad con el Art. 34.º del Reglamento para la obtención del Grado Académico de Bachiller en Toxicología y Título Profesional de Toxicólogo (a) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Lima, 16 de agosto de 2019


Q.F. Tox. Jesús Víctor Lizano Gutiérrez
Presidente


Mg. Luis Alberto Rojas Ríos
Miembro


Mg. Sixto Antonio Gonzalez Elera
Miembro


Q.F. Luz Fabiola Guadalupe Sifuentes de Posadas
Miembro

"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"



DEDICATORIA

A **Dios**, por darme fuerzas para seguir y por protegerme.

A mi padre **Justo**, quien fue y será mi guía, y por quien estaré agradecida siempre por darme todo su apoyo y amor incondicional y enseñarme que todo sacrificio tiene su recompensa. Gracias por la confianza, por todos los momentos y la paciencia que me tuviste y gracias por enseñarme a sonreír, ante todo.

A mi madre **Rosario**, por su apoyo y comprensión en cada momento, por ese cariño incondicional, y gracias por enseñarme a ser tan fuerte como tú.

A mi hijo **Ismael**, quien es mi razón y alegría, y el motivo para poder seguir adelante. Gracias por enseñarme nuevas cosas y motivarme con tu alegría.

A **David**, por haberte convertido en mi cómplice, gracias por tu paciencia y cariño, y tus palabras de aliento. Gracias por toda tu ayuda y tiempo.

A mis hermanos, **Marilyn**, **Luis** y **Justo**, quienes, con sus ocurrencias, me alegran y motivan, gracias por su tiempo y apoyo cuando los necesito; y a **Danny**, quien, desde el cielo, me apoya y protege a mis seres queridos.

Milagros R. Castillo Quispe

*A Ti, mi **Dios** todopoderoso, porque sé que desde donde estés me observas con ternura y me proteges siempre.*

*A mi madre, **Rosa**, quien se fue al cielo con la confianza de que lograría titularme.*

*A mi hija, **Jazmín**, por hacer mis días únicos e inigualables, por motivarme todos los días a salir adelante, por mantener viva mi curiosidad de aprender y por enseñarme a disfrutar de la vida desde los ojos de una niña.*

*A mi padre, **Daniel**; a mis hermanos, **Juan** y **Daniel** y a mi cuñada, **Amy**; por la fe que depositan en mí y por los consejos que siempre me dan.*

Cinthy del Carmen Barrantes Arriola

AGRADECIMIENTOS

*A La **Universidad Nacional Mayor de San Marcos**, a la Facultad de Farmacia y Bioquímica y a la Escuela Académico profesional de Toxicología por la formación académica que recibimos y el amor que nos inculcó en la ciencia.*

*A nuestro de asesor de Tesis, **Dr. José Llahuilla Quea**, por su constante apoyo, por estar siempre disponible y por la constancia con la que nos animó a culminar esta tesis.*

*A la **Q.F. Bertha Jurado Teixeira**, por motivarnos en la realización de nuestra tesis, y habernos apoyado en nuestros ensayos, gracias por su paciencia y que Dios la tenga en su gloria.*

*A **Erick Daniel Moreno Tume** por animarnos a desarrollar esta tesis, por sus aportes científicos en la materia y apoyo en este trabajo.*

*A **Jossimar Huamani Tarazona**, por su generosidad en apoyarnos en los momentos que más lo necesitábamos.*

*A **David Velásquez Villafuerte** por su apoyo incondicional y paciencia para orientarnos en todo momento.*

*A los docentes miembros de jurado: **Q.F. Tox. Jesús Víctor Lizano Gutiérrez, Mg. Luis Alberto Rojas Ríos, Mg. Sixto Antonio Gonzalez Elera y Q.F. Luz Fabiola Guadalupe Sifuentes**, por la asesoría y evaluación del presente trabajo de investigación.*

RESUMEN

La investigación busca determinar la dosis letal media (DL50) y el tiempo letal medio (TL50) que tienen dos extractos etanólicos; *Lantana camara* y *Tagetes minuta* sobre la plaga *Spodoptera frugiperda* procedente de Trujillo, La Libertad.

El ensayo consistió en dos partes. La primera, en la que se llevó a cabo el tamizaje fitoquímico de *Lantana camara* y *Tagetes minuta*. Y la segunda parte, la inmersión de hojas de *Zea mays* en extracto etanólico seco de *Lantana camara* (4 000 ppm, 6 000 ppm, 8 000 ppm, 10 000 ppm y 12 000 ppm), y en extracto etanólico seco de *Tagetes minuta* (700 ppm, 800 ppm, 850 ppm, 900 ppm y 950 ppm) y en el testigo (Metomyl –9 mg/mL) para luego ser acondicionadas en placas petri junto con la *Spodoptera frugiperda* larvas de segundo estadio y determinar la mortalidad en el tiempo (1, 4, 12, 24 y 48 horas). Resultó que a una dosis de 7.800×10^{-4} mg/kg a las 12 horas se visualizó la muerte del 50 % de la muestra para *Tagetes minuta*, y a una dosis de 9.75×10^{-3} mg/kg a las 12 horas se visualizó la muerte del 50 % de la muestra para *Lantana camara*.

Luego de analizar los resultados y realizar el análisis PROBIT se concluyó que *Lantana camara* presentó una DL50 de 9.533×10^{-3} mg/kg a las 12 horas mientras que para *Tagetes minuta* se obtuvo una DL50 de 7.387×10^{-4} a las 12 horas.

Palabras clave: *Tagetes minuta*, *Lantana camara*, *Spodoptera frugiperda*, DL50, TL50, Probit.

SUMMARY

This research aims to determine median lethal dose (LD50) and the median lethal time (TL50) that have two ethanolic extracts; *Lantana camara* and *Tagetes minuta* on the plague *Spodoptera frugiperda* from Trujillo, La Libertad.

The trial has been developing in two parts. First, photochemical screening test of *Lantana camara* and *Tagetes minuta* was performed. And the second part consist on the dip of leaves of *Zea mays* into ethanolic extract of *Lantana camara* (4 000 ppm, 6 000 ppm, 8 000 ppm, 10 000 ppm and 12 000 ppm), ethanol extract of *Tagetes minuta* (700 ppm, 800 ppm, 850 ppm, 900 ppm and 950 ppm) and standard (Metomyl – 9 mg/mL); then, it will be conditioned in petri plate with a larvae of *Spodoptera frugiperda* (second instar) and it'll be determine mortality over time (1,4,12,24 and 48 hours). As result, a dose of 7.800×10^{-4} mg / kg was visualized at 12 hours the death of 50% of sample for *Tagetes minuta*; and at a dose of 9.75×10^{-3} mg / kg at 12 hours it was visualized the death of 50 % of the sample for *Lantana camara*.

After analyzing the results and finalizing the PROBIT analysis, it was concluded that *Lantana camara* presented an LD50 of 9.533×10^{-3} mg / kg at 12 hours whereas for *Tagetes minuta* an LD50 of 7.387×10^{-4} was obtained at 12 hours.

Key words: *Tagetes minuta*, *Lantana camara*, *Spodoptera frugiperda*, LD50, LT50, Probit.

DEDICATORIA
AGRADECIMIENTOS
RESUMEN
SUMMARY

INDICE
LISTA DE TABLAS
LISTA DE GRAFICOS

I.	INTRODUCCIÓN	1
1.1.	Objetivo general	3
1.2.	Objetivos específicos	3
1.3.	Hipótesis	3
II.	MARCO TEÓRICO	4
2.1.	Antecedentes	4
2.2.	Marcos Conceptuales	12
2.2.1.	Tagetes minuta “Huacatay”	12
2.2.1.1.	Familia Asteraceae	12
2.2.1.2.	Género Tagetes	12
2.2.1.3.	Especie <i>Tagetes minuta</i>	13
2.2.2.	<i>Lantana camara</i> “Lantana”	16
2.2.2.1.	Familia Verbenácea	16
2.2.2.2.	Género Lantana	17
2.2.2.3.	Especie <i>Lantana Camara</i>	18
2.2.3.	<i>Spodoptera frugiperda</i> “Gusano cogollero de maíz”	21
2.2.3.1.	Aspectos generales de <i>Spodoptera frugiperda</i> (J E. Smith)	21
2.2.3.2.	Taxonomía	21
2.2.3.3.	Ciclo de vida	22
2.2.3.4.	Morfología	23
2.2.3.5.	Manejo del “Gusano Cogollero”	26

2.2.4.	Insecticidas empleados contra la plaga <i>Spodoptera frugiperda</i>	27
2.2.4.1.	Plaguicidas Carbamatos	28
2.2.5.	Ensayos de Toxicidad	31
2.2.5.1.	Dosis Letal	32
2.2.5.2.	Dosis Letal Media (DL50)	32
2.2.5.3.	Tiempo Letal (TL) y Tiempo Letal Medio (TL50)	33
III.	METODOLOGÍA	34
3.1.	Tipo de estudio	34
3.2.	Materiales, equipos y reactivos	34
3.3.	Recolección del material vegetal	35
3.4.	Preparación de los extractos etanólico	36
3.5.	Marcha de solubilidad	36
3.6.	Tamizaje fitoquímico	37
3.7.	Cromatografía en capa fina	37
3.8.	Recolección del material biológico	39
3.9.	Crianza de <i>Spodoptera frugiperda</i>	39
3.10.	Determinación del efecto tóxico (DL50 Y TL50) de los extractos etanólicos de <i>Lantana</i> <i>camara</i> y <i>Tagetes minuta</i> .	41
IV.	RESULTADOS	43
4.1.	Marcha de solubilidad	43
4.2.	Tamizaje fitoquímico	44
4.3.	Cromatografía en capa fina	44
4.4.	Determinación del efecto tóxico (DL50 Y TL50) de los extractos etanólicos de <i>Lantana</i> <i>camara</i> y <i>Tagetes minuta</i> .	50
4.5.	Análisis estadístico	54
4.6.	Determinación de DL50 de extracto etanólico seco de <i>Tagetes minuta</i>	56

4.7.	Determinación de DL50 de extracto etanólico seco de <i>Lantana camara</i>	57
4.8.	Determinación de TL50 de extracto etanólico seco de <i>Tagetes minuta</i>	59
4.9.	Determinación de TL50 de extracto etanólico seco de <i>Lantana camara</i>	60
V.	DISCUSIONES	61
VI.	CONCLUSIONES	66
VII.	RECOMENDACIONES	68
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69
IX.	ANEXOS	84

LISTAS DE TABLAS

Tabla 1.	Clasificación Taxonómica de <i>Tagetes minuta</i> “Huacatay”.	14
Tabla 2.	Clasificación Taxonómica de <i>Lantana camara</i> “Lantana”.	19
Tabla 3.	Clasificación Taxonómica de <i>Spodoptera frugiperda</i> “Cogollero de maíz”.	22
Tabla 4.	Clasificación toxicológica de los plaguicidas.	32
Tabla 5.	Tamizaje fitoquímico para identificación de metabolitos secundarios.	37
Tabla 6.	Ensayo de solubilidad del extracto etanólico seco de <i>Tagetes minuta</i> “Huacatay”.	43
Tabla 7.	Ensayo de solubilidad del extracto etanólico seco de <i>Lantana camara</i> “Lantana”.	43
Tabla 8.	Tamizaje fitoquímico de los extractos etanólico de <i>Tagetes minuta</i> y <i>Lantana camara</i> .	44
Tabla 9.	Mortalidad por hora de <i>Spodoptera frugiperda</i> estadio larval II (número de individuos muertos), de acuerdo con la dosis y concentración del extracto etanólico seco de <i>Tagetes minuta</i> . (Primera repetición).	50
Tabla 10.	Mortalidad por hora de <i>Spodoptera frugiperda</i> estadio larval II (número de individuos muertos), de acuerdo con la dosis y concentración del extracto etanólico seco de <i>Tagetes minuta</i> . (Segunda repetición).	51
Tabla 11.	Mortalidad por hora de <i>Spodoptera frugiperda</i> estadio larval II (número de individuos muertos), de acuerdo con la dosis y concentración del extracto etanólico seco de <i>Tagetes minuta</i> . (Tercera repetición).	51
Tabla 12.	Mortalidad por hora de <i>Spodoptera frugiperda</i> estadio larval II (número de individuos muertos), de acuerdo con la dosis y concentración del extracto etanólico seco de <i>Lantana camara</i> . (Primera repetición).	52

Tabla 13.	Mortalidad por hora de <i>Spodoptera frugiperda</i> estadio larval II (número de individuos muertos), de acuerdo con la dosis y concentración del extracto etanólico seco de <i>Lantana camara</i> . (Segunda repetición).	52
Tabla 14.	Mortalidad por hora de <i>Spodoptera frugiperda</i> estadio larval II (número de individuos muertos), de acuerdo con la dosis y concentración del extracto etanólico seco de <i>Lantana camara</i> . (Tercera repetición).	53
Tabla 15.	Porcentaje de mortalidad del estadio larval 2 de <i>Spodoptera frugiperda</i> tras la aplicación del extracto etanólico seco de <i>Tagetes Minuta</i> .	53
Tabla 16.	Porcentaje de mortalidad del estadio larval 2 de <i>Spodoptera frugiperda</i> tras la aplicación del extracto etanólico seco de <i>Lantana camara</i> .	54
Tabla 17.	Análisis de datos estadísticos por la prueba de Kruskal Wallis para el extracto etanólico seco de <i>Tagetes minuta</i> .	54
Tabla 18.	Análisis de datos estadísticos por la prueba de Kruskal Wallis para el extracto etanólico seco de <i>Lantana camara</i> .	55
Tabla 19.	Análisis de datos estadísticos de DL50 del extracto etanólico seco de <i>Tagetes minuta</i> procesados en el modelo Probit del SPSS 22.	56
Tabla 20.	Análisis de datos estadísticos de DL50 del extracto etanólico seco de <i>Lantana camara</i> procesados en el modelo Probit del SPSS 22.	58
Tabla 21.	Análisis de datos estadísticos de TL50 del extracto etanólico seco de <i>Tagetes Minuta</i> procesados en el modelo Probit del SPSS 22.	59
Tabla 22.	Análisis de datos estadísticos de TL50 del extracto etanólico seco de <i>Lantana camara</i> para una concentración de 10 000 ppm procesados en el modelo Probit del SPSS 22.	60

Tabla 23.	Límites de confianza para el extracto etanólico seco de <i>Tagetes minuta</i> .	92
Tabla 24.	Límites de confianza para el extracto etanólico seco de <i>Lantana camara</i> .	93

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico N° 1. Prueba de Kruskal – Wallis para muestras independientes de Wallis para el extracto etanólico seco de <i>Tagetes minuta</i> .	55
Gráfico N° 2. Prueba de Kruskal – Wallis para muestras independientes de Wallis para el extracto etanólico seco de <i>Lantana camara</i>	56
Gráfico N° 3. Análisis de datos estadísticos de DL50 del extracto etanólico seco de <i>Tagetes minuta</i>	57
Gráfico N° 4. Análisis de datos estadísticos de DL50 del extracto etanólico seco de <i>Lantana camara</i>	58
Gráfico N° 5. Análisis de datos estadísticos de TL50 del extracto etanólico seco de <i>Tagetes minuta</i>	59
Gráfico N° 6. Análisis de datos estadísticos de TL50 del extracto etanólico seco de <i>Lantana camara</i>	60

I. INTRODUCCIÓN

Desde sus inicios, el control de plagas o malezas ha resultado un grave problema para la agricultura llegando afectar tanto en cantidad como en calidad a los alimentos que se cultivaban e impactando en la economía. Durante la segunda guerra mundial se empezó a desarrollar métodos que contribuyeran a controlar estas plagas o malezas, así por ejemplo, se emplearon sales de cobre o Arseniato de Plomo. ^(70, 71)

Con el transcurso de los años se descubrieron y emplearon otros insecticidas, por mencionar alguno de ellos: los carbamatos y organofosforados usados por primera vez en 1956 y 1950 respectivamente. ⁽⁶⁹⁾

En la actualidad, el sector agroindustrial en el Perú es uno de los más dinámicos. Su crecimiento durante los últimos 15 años ha llevado a que el país emplee tecnología de vanguardia al respecto; esto, al menos a nivel de productos de agroexportación.

El uso de insecticidas como método convencional de manejo de plagas resulta atractivo dado el bajo costo de la inversión frente a la ganancia (Estados Unidos devuelve aproximadamente \$4 por \$1 invertido en el control de plagas). Los agricultores apelan al uso de plaguicidas ya que son fáciles de usar, baratos, su efectividad es conocida y causan una mortalidad rápida; sin embargo, bajo este aspecto, no se considera los costos sociales o ecológicos en la agricultura. La OMS ha calculado alrededor de 20 000 personas mueren anualmente como consecuencia de la exposición a insecticidas. ^(1,2)

Algunos insecticidas han sido utilizados de manera tan intensiva que la evolución de la resistencia ha comprometido su uso en generaciones o alterado los ecosistemas de los artrópodos, por ejemplo, cuando su uso

produce el aumento de plagas o aparición de nuevas especies de plagas a eliminar. ⁽¹⁾

Spodoptera frugiperda es una plaga de importancia en diversos cultivos agrícolas, tanto para cultivos de panllevar, como para productos de agroexportación, causando pérdidas económicas. Para su control se suelen usar distintos productos agroquímicos sintéticos, entre los que destacan algunos organofosforados, carbamatos y piretroides, de conocida acción tóxica, tanto para el ambiente, como para la inocuidad agroalimentaria.

En sus esfuerzos por combatir el uso inadecuado de los plaguicidas y fomentar una agricultura sostenible, la ONU incluyó dentro de la Agenda 2030 y los Objetivos de Desarrollo Sostenible: “Poner fin al hambre, lograr la seguridad alimentaria y la mejora de la nutrición y promover la agricultura sostenible” (Objetivo 2: Hambre cero). Esto es contribuir al mantenimiento de los ecosistemas y aumentar la investigación en desarrollo tecnológico y servicios de extensión agrícola, sobre todo en países menos adelantados. ⁽⁷²⁾ Entonces, una de las alternativas para manejar el problema de plagas en agricultura es el uso de productos derivados vegetales. En la actualidad son varios los productos empleados para este fin a nivel comercial, y la agricultura moderna tiene el reto de producir cada vez más, empleando insumos menos agresivos con el ambiente. Una investigación refiere que en el 2016 los plaguicidas químicos de uso agrícola son mayormente importados que los plaguicidas biológicos (95.5 % a 5.5 % respectivamente) ⁽²⁾

Existe información que avala la posibilidad de emplear extractos de plantas del género Tagetes y Lantana en el control de larvas de Lepidópteros, y aunque su empleo no se encuentra muy difundido, el presente trabajo pretende servir como punto de partida para considerar estos extractos como una herramienta más para el manejo de plagas y enfermedades

1.1. Objetivo general

- ✓ Determinar la DL50 y el TL50 de los extractos etanólicos de *Tagetes minuta* (Huacatay) y *Lantana camara* (Lantana) sobre *Spodoptera frugiperda* (L₂).

1.2. Objetivos específicos

- ✓ Realizar el tamizaje fitoquímico del extracto etanólico seco de *Lantana camara*.
- ✓ Realizar el tamizaje fitoquímico del extracto etanólico seco de *Tagetes minuta*.
- ✓ Determinar la DL50 del extracto etanólico seco de *Lantana camara* sobre *Spodoptera frugiperda* (L₂).
- ✓ Determinar la DL50 del extracto etanólico seco de *Tagetes minuta* sobre *Spodoptera frugiperda* (L₂).
- ✓ Determinar el TL50 del extracto etanólico seco de *Lantana camara* sobre *Spodoptera frugiperda* (L₂).
- ✓ Determinar el TL50 del extracto etanólico seco de *Tagetes minuta* sobre *Spodoptera frugiperda* (L₂).
- ✓ Determinar el porcentaje de mortalidad de *Spodoptera frugiperda* (L₂) a las 1, 4, 12, 24 y 48 horas tras haberse aplicado los extractos etanólicos de *Lantana camara* y *Tagetes minuta*.

1.3. Hipótesis

- Existe una DL50 y TL50 para los extractos etanólicos secos de *Tagetes minuta* “Huacatay” y *Lantana camara* “Lantana” sobre *Spodoptera frugiperda* “gusano cogollero de maíz” en estado larval segundo instar.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Spodoptera frugiperda (J. E. Smith) es conocida comúnmente como "cogollero del maíz" (derivado de su forma de daño más conocida) u "oruga militar tardía". Ataca diferentes cultivos con niveles de densidad variables, siempre poniendo en riesgo la productividad del mismo. Cuando afecta las plantas jóvenes, los daños pueden ser totales, mientras que si afecta las plantas en estados fenológicos avanzados, pueden reponerse de la defoliación llegando a una producción normal. *S. frugiperda* es un insecto polífago que ocasiona numerosas pérdidas en diversos cultivos; esta característica, junto a su poder de aclimatación a diferentes condiciones permite que su distribución geográfica sea amplia, desde el sureste de Canadá hasta Chile y Argentina, incluyendo también todas las islas del Caribe. Esta especie es reconocida como la plaga americana más importante de las regiones tropicales, aunque también se localiza en zonas templadas. ⁽³⁾

En relación al control químico de *S. frugiperda*, un boletín de Pioneer-Du Pont, señala *que* según el momento en que el cultivo se ve afectado por la plaga, el daño generado en la planta variará, y las soluciones a utilizar serán distintas. El momento óptimo de control es antes de que la larva se desarrolle más de 1,5 cm (L3). Si las larvas ya están alojadas en el cogollo, se requerirán volúmenes mayores para intentar llegar al objetivo. El autor, además, señala que en la primera fase: Establecimiento del cultivo, el objetivo es no perder las plantas, y se controla a la plaga mediante el uso de piretroides, y si en esta fase se encontraran posturas (conjunto de huevos de gusano cogollero) aplicar: piretroide + IGR (Insecticidas Reguladores de Crecimiento). Mientras que en la fase dos: Fase de expansión foliar, el objetivo es cortar el ciclo de la plaga para que no llegue a la espiga, con múltiples estadios larvales y oviposturas nuevas, aplicar

Piretroide/ Fosforado / Carbamato + IGR. Si las larvas monitoreadas están en estadios menores a L3 se puede aplicar solo IGR. ⁽⁴⁾

Chango (2012) estudió el efecto de Larvín (thiodicarb) impregnada en arena, sobre el ataque de *Spodoptera frugiperda*, en *Zea mays*, empleando diferentes concentraciones (5, 10 y 15 cc/0,45 kg del dispersante) y diferentes momentos de aplicación (a los 30, 60, 90 y 120 días de la siembra). Sus resultados indican que la aplicación de Larvin en dosis de 15 cc/0,45 kg de arena, así como la aplicación a los 60 días, produjeron los mejores resultados al reducir la incidencia y severidad del ataque del gusano cogollero y consecuentemente mejorar los niveles de rendimiento del cultivo. ⁽⁵⁾

Gahukar (2014) asegura que en la agricultura se logran las cosechas a través del uso pesticidas químicos los cuales son efectivos y tienen un efecto “noqueador” en los diferentes ciclos de vida de los insectos ácaros. Recientemente, los productos vegetales se han experimentado en el cultivo de interiores, así como en los campos. Extractos acuosos (5 % – 10 %), de hoja o semilla; aceites crudos (0.5 % - 3 %), y otros son usados como medidas tradicionales mientras que aceites esenciales, extractos en solventes orgánicos y formulaciones basadas en aleloquímicos puros son productos usados en el mercado. Los productos de Neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) son aplicados extensivamente en los cultivos en la agricultura, así como otras plantas que se encuentran disponibles localmente y son explotadas debido a la actividad que poseen. Los beneficios potenciales es que son económicos, amigables con el medio ambiente, efectivos y de baja toxicidad a organismos no blanco, incluyendo humanos. Se espera que el futuro, las estrategias en el manejo integrado de plagas de productos vegetales pueda mejorar la agricultura orgánica sustentable y prevenir que los cultivos se pierdan tanto en términos de calidad como producción. ⁽⁶⁾

Santos et.al (2012) evaluaron los efectos de extractos metanólicos de hojas, cáscara, semillas y pulpa del fruto de *Copaifera langsdorffii*

sobre *Spodoptera frugiperda*. Resultó que el extracto producto de la cascara y hojas fueron más tóxicas en *S. frugiperda* que los otros. Por lo tanto, fueron usados en más experimentos *S. frugiperda* (L₂), cuyos resultados mostraron reducción en el crecimiento larval, periodo prolongado de desarrollo, incremento de mortalidad, y disminución de fertilidad y fecundidad en adultos. Se observó también, disminución de la viabilidad de huevos cuando los insectos fueron tratados con extractos de hojas y cascara del fruto en su estado larval. Además, cuando se sometieron a un análisis ultra estructural bajo un microscopio de barrido de electrones dichos huevos mostraron anomalías, además, ambos extractos incrementaron la excreción de proteínas en las heces de los insectos y actividad inhibida de la tripsina en un test *in vitro*. En consecuencia *C. langsdorffii* presenta potencial para el desarrollo de un producto que controle a gusano cogollero. ⁽⁷⁾

Coveña (2015) evalúa las propiedades y características bioinsecticida del cedro rojo. Se realizaron evaluaciones de gusano cogollero cada siete días previo a las aplicaciones del bioinsecticida, luego se efectuaron conteos de las larvas a las 24, 48, horas y 7 días para tabular la efectividad y persistencia del mismo. Fueron los tratamientos de biocedro, tanto en aspersión y aplicación en cebo en dosis de 15 mL / litro de agua y 20 g / kg de arena, respectivamente, los que ejercieron mejor control sobre *Spodoptera frugiperda* en el cultivo del maíz. En relación al porcentaje de mortalidad se evidenció que entre más alta es la dosificación del biocedro, mayor es el control del gusano cogollero, principalmente en larvas de instares mayores. ⁽⁸⁾

Trujillo (2008) desarrolla un estudio en relación a la obtención *in vitro* de metabolitos secundarios de *Azadirachta indica* “Neem” como alternativa de biocida como propuesta dirigida al control de *Spodoptera frugiperda*. Evaluó la eficiencia de extractos etanólicos de suspensiones celulares de *Azadirachta indica* para determinar la DL₅₀ y el TL₅₀ sobre la fase larval del segundo instar (L₂). Se

probaron cuatro concentraciones de los extractos (2 500, 5 000, 10 000 y 30 000 ppm) y el testigo (alcohol 96 %) para determinar la mortalidad en el tiempo (0, 12, 18, 25, 40 h), concluyendo que las concentraciones de 2 500 ppm, 5 000 ppm, 10 000 ppm y 30 000 ppm provenientes de suspensiones celulares de *A. indica* con solvente etanólico, ejercen un efecto letal sobre las larvas de *S. frugiperda* en su estado L₂.⁽⁹⁾

Lantana camara es una mata originaria de América Tropical. Que ha invadido regiones subtropicales del globo: India, sudeste asiático, Polinesia, Australia. Presente en unos 50 países, tiende a sustituir a la vegetación local, pudiendo provocar- como ocurre en India y en Australia- Importantes pérdidas en los ganados. La intoxicación se caracteriza por diarrea, vómitos, cianosis, problemas respiratorios, midriasis y disminución de los reflejos ósteo-tendinosos. Los trastornos se manifiestan de 2 - 6 horas después de la indigestión. Las sustancias que se juzgan responsables de la toxicidad son triterpenos pentacíclicos, esteres del ácido 3-oxo-22-hidroxi-olean-12-en-28-oico: lantadeno A (angelato) y lantadeno B (dimetilacrilato), y su contenido varía según los cultivares. El papel exacto de estas moléculas y/o de sus metabolitos y la supuesta patogenia de la intoxicación, son aún, en parte, hipotéticos.⁽¹⁰⁾

Dong et al. (2005), extrajeron lantadeno de hojas de *Lantana camara* y probó sus efectos antialimentarios sobre larvas de *Plutella xylostella* y *Spodoptera litura*. En pruebas de “No Elección”, se obtuvo como resultado que el Lantadeno a una concentración de 1,6 mg x ml (-1) tuvo efectos antialimentarios en larvas de segundo instar de *P. xylostella* y larvas de primer instar de *S. litura*, con un rango promedio antialimentario de 62,4 % y 33,1 %, respectivamente dentro de las 48 horas. En las pruebas de elección, incluso a baja concentración (0.4 mg x ml (-1)), el lantadeno seguía presentando efectos antialimentarios en larvas de segundo instar de *P. xylostella*, y el ratio de concentración antialimentario al 0.4, 0.8 y 1.6 mg x ml (-1) fue de 52.7 %, 55.5 % y 78.9 %, respectivamente. El lantadeno solo a la

concentración de 1.6 mg x mL (-1) tuvo efecto antialimentario en larvas de primer instar de *S. litura* y un rango antialimentario de 33.0 %. Para las larvas de segundo instar de *S. litura*, lantadeno no tuvo efecto antialimentario ni en las pruebas de no elección como en las pruebas de elección. ⁽¹¹⁾

Un estudio realizado por Yallappa R., en el año 2013, concierne a la investigación de fuentes naturales de moléculas nuevas que prometan en vista de su naturaleza ecoamigable, selectividad y seguridad de los mamíferos. El proyecto consistió en aislar una molécula bioactiva natural de las hojas de *Lantana camara* basados en su composición físico-química y en técnicas de espectrofotometría (IR, ¹H NMR, ¹³C NMR and MS). Lantana es altamente tóxica y se necesitan concentraciones muy pequeñas para controlar plagas. Esta molécula tiene gran potencial de protección del grano almacenado y causa una reducción significativa en la progenie F1 de las tres especies en el grano almacenado tratado y suprimida totalmente con 30 µg/l. Las diferencias en germinación entre el grupo control y los granos tratados no fueron significativas. La falta de algún efecto adverso de Lantana en la germinación de la semilla es altamente deseable para proteger al grano, convirtiéndose así en una fuente potencial de biofumigante para la economía y una estrategia de control de plagas sustentable del medio ambiente en el contra las plagas de los granos almacenados o plantas leguminosas. ⁽¹²⁾

Un estudio realizado por Guevara L, en el 2015, evaluó concentraciones de 30, 20 y 10 % (v/v) de extractos vegetales de hojas de Lantana (*Lantana camara*) y de hojas jóvenes y maduras de higuera (*Ricinus communis*) sobre la mortalidad del segundo estadio ninfal de mosca blanca (*Bemisia tabaci* L.) a 24, 48, 72, 96 y 120 h después de la exposición y se determinó la eficiencia en el control de este insecto plaga con extractos de higuera y Lantana. Los resultados muestran que el extracto de hojas jóvenes de higuera a concentraciones de 10 y 15 % dio los mejores resultados de control, al presentar mortalidades de 82.4 y 79.8 % a las 120 h

respectivamente, mientras que para el extracto de hojas de Lantana la mortalidad observada fue de 61.9 % a la concentración de 15 %.

(13)

Por último, en relación a la Lantana, un estudio realizado por Rusmelicia R., en el año 2015, determina la actividad insecticida de los extractos etanólicos de nim (*Azadirachta indica* L.), vinca rosea (*Catharanthus roseus* L.), ruda (*Ruta graveolens* L.), trinitaria (*Bougainvillea glabra* Choisy), Lantana (*Lantana camara* L.) y yuquilla (*Ruellia tuberosa* L.) sobre los adultos de mosca blanca (*Bemisia tabaci* Genn.) en condiciones de laboratorio. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado, con 7 tratamientos (seis extractos y un testigo) a concentraciones de 250, 500, 750 y 1000 ppm para cada extracto. Los extractos de ruda y nim causaron una mortalidad de 99,1 y 95,6 % a las 72 h, respectivamente, diferentes estadísticamente a los tratamientos con vinca, trinitaria y yuquilla. El extracto de Lantana presentó mortalidad intermedia con 78,1 %. Los extractos de nim y ruda se sugirieron por su eficacia en laboratorio como candidatos para brindar a los productores otras alternativas en los programas de manejo integrado de mosca blanca. (14)

Tagetes minuta es nativa de los pastizales templados y regiones montañosas del sur de América del Sur, incluyendo los países de Argentina, Chile, Bolivia, Perú, y en la región de Paraguay. Los nombres locales varían según la región, comúnmente encontrado en la literatura como: chinchilla, chiquilla, chilca, zuico, suico o Huacatay, como es conocida en nuestro país. (15)

Tagetes minuta ampliamente utilizada en la gastronomía, como condimento, también se le atribuyen propiedades medicinales en trastornos digestivos, hinchazón epigástrica, náuseas, aerofagia. La infusión de sus hojas permite aliviar los catarrros y algunos síntomas de bronquitis. (16,17)

Diversos compuestos obtenidos de extractos vegetales han mostrado una actividad biológica idéntica a la que inducen las hormonas

juveniles de insectos. Estos fitojuvenoides al ser administrados inhiben total o parcialmente la metamorfosis de estos individuos. Entre estos numerosos metabolitos secundarios se encuentra la tagetona, obtenida de la *Tagetes minuta*. Estos metabolitos se han revelado como una fuente importante para el desarrollo de nuevos plaguicidas. ⁽²²⁾

Tagetes minuta es rica en muchos compuestos secundarios, como compuestos acíclicos, monocíclicos y bicíclicos monoterpenos, sesquiterpenos, flavonoides, tiofenos, y compuestos aromáticos (Rodríguez y Mabry, 1977). Estos compuestos secundarios en *Tagetes* son elementos para evitar el uso de agroquímicos, los cuales por su toxicidad alteran los agroecosistemas. ^(15,18)

Un informe anual de *Tagetes minuta*, la ha identificado como potencial de plantas medicinales ya que contiene aleloquímicos y aceites esenciales que tiene usos y aplicaciones multidimensionales tales como herbicidas, germicidas y nematotoxicidad, insecticidas, fungicidas, etc. ^(15,18).

Tagetes minuta tiene una amplia gama de bioactividad, presentando así mismo como un agente excelente medida preventiva y como conservante de alimentos para una amplia gama de productos alimenticios y bebidas. ⁽¹⁹⁾

En nuestro país, Bobadilla M. en el 2007, realizó una evaluación de distintos recursos vegetales biocidas, para el control de *Aedes aegypti* en estadio inmaduros. Se realizó una comparación entre el efecto de insecticidas químicos, controladores biológicos y extractos de las plantas. Se emplean los extractos foliares acuosos de diez plantas biocidas, entre ellas la *Tagetes minuta*. Los resultados muestran un 100% de control en larvas del IV estadio y pupas desde las 24 horas de exposición a las concentraciones de 10% y 5% de los extractos foliares orgánicos de *Nicotiana tabacum* L. “tabaco”, *Annona cherimola* Mill. “chirimoya”, *A. muricata* L. “guanábana”, *Ricinus communis* L. “higuerilla” y *Argemone subfusiformis* G. B. Ownbey

“cardosanto” y en menor proporción, del orden del 85%, los extractos foliares acuosos de *Ruta graveolens* L. “ruda” *Schinus molle* L. “molle” y *Verbena litoralis* “verbena” H.B.K., *Chenopodium ambrosioides* L. “paico” y *Tagetes minuta* L. “Huacatay”. Todos los extractos foliares acuosos y orgánicos de las 10 especies vegetales mostraron control larvica y pupica en condiciones de laboratorio y campo simulado, siendo las más efectivas *A. subfusiformis*, *N. tabacum*, *A. muricata*, *A. cherimola* y *V. litoralis* y menos efectivas *Ch ambrosioides*, *R. communis*, *R. graveolens* *S. molle* y *T. minuta* con mortalidades superiores a 32% desde las 24 horas de exposición. ⁽²⁰⁾

Además D. Salinas, L.Llanos, M. Gutiérrez, G. Valladares, E. Rodríguez, en un estudio realizado en México en 2012, evaluó la actividad bioinsecticida de los extractos orgánicos de *Tagetes erecta* L. sobre larvas neonatas de *Spodoptera frugiperda*, considerada como la plaga más importante del maíz en el mundo. El extracto acetónico de hojas (500 ppm) de *T. erecta* mostró un efecto antialimentario respecto a los extractos florales de esta especie ocasionando una reducción del 50% del peso de las larvas en comparación al testigo. La información obtenida de los pesos de las larvas a los siete días se corroboró con los resultados obtenidos a los 14 días, los tres extractos de hoja de *T. erecta* provocaron alta mortalidad larval, con hexano (48 %), acetona (60 %) y hoja etanol, un 72 %. Los extractos de *T. erecta* de hojas presentaron una actividad tóxica causando una mortalidad en pupas del 40 al 80 %. El uso de extractos de plantas puede ser propuesto como un método para el control de *S. frugiperda*, de una manera respetuosa del medio ambiente. Esto nos indica que las especias vegetales de este género tienen a tener un efecto insecticida. ⁽²³⁾

En otro estudio realizado por Braga P., Schiedeck G. y Rogério C. en el 2013, se evaluó la actividad biológica de la *Tagetes minuta*, evaluando el efecto del extracto acuoso de sus hojas y flores, como alternativa agroecológica aplicándolo en pulgón (*Brevicoryne brassicae*) en hortalizas. Empleando ambos extractos (10 % p/v), se

evaluaron diluciones al 30 % y 10 %, comparándolo con un estándar comercial “Xispa-praga” y agua como blanco. Como resultados se indicó una acción repelente mayor de los extractos de hojas, mientras que los extractos de las flores presentan mejores resultados de mortalidad. Ambos extractos presentaron resultados satisfactorios disminuyendo la tasa de crecimiento, supervivencia y descendencia de los pulgones. ⁽²¹⁾

2.2. Marcos conceptuales

221. *Tagetes minuta* “Huacatay”

2.2.1.1. Familia Asteraceae

Asteraceae es una de las familias más grandes de angiospermas en el reino vegetal. Incluye alrededor de 1600 géneros y 23 000 especies a lo largo del mundo. Aproximadamente 300 Asteraceae son usadas con fines medicinales ⁽²⁴⁾, sin embargo, muchas son consideradas “malas hierbas” o se emplean como plantas ornamentales. Su toxicidad está vinculada a la existencia de alcaloides pirrolidínicos (que atacan a los nucleófilos celulares, y provocan necrosis de las células endoteliales resultando en hipertensión y secundariamente en fibrosis); y al metabolismo terpénico (como responsable de la neurotoxicidad). ⁽²⁵⁾

2.2.1.2. Género *Tagetes*

Plantas herbáceas anuales o perennes, aromáticas al estrujarse, tienen de importancia industrial y médica. Usadas como ornamentales y en agricultura debido a que sus compuestos bioactivos exhiben actividad nematocida, fungicida, bactericida e insecticida. ^(27,29)

2.2.1.3. Especie *Tagetes Minuta*

Descripción botánica:

En la familia Astereaceae es posible encontrar todos los tipos de vegetación debido a que es un grupo muy heterogéneo gracias a su plasticidad genética, sus excelentes mecanismos de dispersión y capacidad para adaptarse a diferentes condiciones ecológicas. ⁽²⁶⁾

Receptáculo plano, desnudo o ciliado. Corolas amarillas, anaranjadas, rojizas o blancas. Hojas pinadas y tallos estriados. ^(30,31)

Hierba anual, de constitución erecta que llega a alcanzar hasta 50 cm de alto; hojas lanceoladas color verde oscuro a negro, dentadas, de olor fuerte pero agradable; inflorescencia tipo cabezuelas en corimbos; flores liguladas de color amarillo ovadas a elípticas; y fruto simple, seco que abre al madurar.

^(34,35, 36)



Figura 1. *Tagetes minuta*. Fuente: University of Colorado

Museum of Natural History Herbarium Vascular Plant Collection

Disponible en:

<http://www.herbanwmex.net/portal/collections/individual/index.php?occid=13898528>

Sinonimia vulgar:

La especie *Tagetes minuta* es conocida con los siguientes nombres: “Huacatay” (Perú); wakatay, suico o chicchipa (Bolivia). ⁽³²⁾

Taxonomía:

La especie *Tagetes minuta* “Huacatay” presenta la clasificación taxonómica señalada en la TABLA 1

TABLA 1. Clasificación Taxonómica de *Tagetes minuta* “Huacatay”.

<i>Taxonomía Tagetes minuta</i>	
Reino	Plantae
Sub Reino	Viridiplantae
Infra Reino	Streptophyta
Super Division	Embryophyta
División	Tracheophyta
Sub Division	Spermatophytina
Clase	Magnoliopsida
Super Orden	Asteranae
Orden	Asterales
Familia	Asteraceae
Genero	Tagetes
Especie	<i>Tagetes minuta</i>

Fuente: Integrated Taxonomic Information System.

Disponible en: <https://www.itis.gov/>

Distribución geográfica:

Esta especie se caracteriza por poseer una distribución cosmopolita, ya que puede ser cultivada en la Costa, Sierra y Amazonía del Perú. ^(33,34)

Otras 56 especies se encuentran distribuidas a lo largo del continente americano, y cerca de la mitad se ubican en México, por esta razón se plantea que México es el centro de origen y diversidad de este género. ⁽²⁸⁾

Composición fitoquímica:

Para algunas especies se comparten los metabolitos secundarios, mientras que otros pueden encontrarse en una sola especie. Algunos de estos compuestos encontrados pertenecen a los grupos de alcoholes, éteres, aldehídos, acetonas, ésteres, carotenoides, flavonoides, tiofenos, terpenos y cumarinas. ⁽³⁰⁾

A partir de los análisis realizados en esta especie, *Tagetes minuta*, en diferentes partes del mundo se sabe que la composición química varía dependiendo del lugar de la cosecha/ recolección, estadio de desarrollo del vegetal, partes de plantas, los componentes predominantes del aceite esencial de *Tagetes minuta* son monoterpenos oxigenados, monoterpenos no oxigenados, sesquiterpenos, y otros como flavonoides, tiofenoles, ciclohexano, pentadecano, entre otros.

^(34,38)

Los estudios en relación a la composición de aceites esenciales de *Tagetes minuta* provienen de hojas y flores. Seis componentes principales, representan el 90 % del total: b-felandreno, limoneno, β -ocimeno, dihidrotagetona, tagetona y tagetenona. ⁽³⁷⁾

Entonces, desde un punto de vista fitoquímico se considera a *Tagetes minuta* como una planta rica en metabolitos secundarios responsables de otorgar bioactividad sobre diferentes organismos. ⁽³⁴⁾

Actividad citotóxica:

Existen ensayos que prueban el efecto citotóxico de aceites esenciales de *T. minuta*. Para ello realizaron un ensayo modificado 3- (4, Bromuro de 5-dimetiltiazol-2-il) -2, 5-difeniltetrazolio (MTT).

Los resultados del ensayo MTT indicaron que en bajas concentraciones (<50 µg / mL), aceites esenciales de *T. minuta* no tuvo efecto viable en células de cáncer nasofaríngeo y células de carcinomas hepáticos. Sin embargo, en concentraciones más altas (50-200 µg / mL), la viabilidad celular se redujo significativamente en relación con la concentración, con un máximo efecto mostrado a concentraciones mayores a 200 µg / mL. La concentración Inhibitoria media (IC50) para células de cáncer nasofaríngeo y células de carcinomas hepáticos fue de 75 (+/- 5) y 70 (+/- 4) µg/mL de aceite esencial de *T. minuta* respectivamente. ⁽³⁹⁾

En otro estudio *T. minuta* mostró una actividad citotóxica moderada contra las células tumorales de mama, con una IC50 de 54,7 (+/- 6,2) µg / ml. Mientras que en el ensayo de eliminación de radicales DPPH, el aceite de *T. minuta* mostró una potente actividad antirradical con un valor de IC50 de 36 µg / ml. ⁽⁴⁰⁾ No se ha encontrado referencias bibliográficas que refieran pruebas de citotoxicidad realizadas con extractos etanólico de *T. minuta*.

222 *Lantana camara* “Lantana”

2.2.2.1. Familia Verbenácea

Arbusto que alcanza más de 3 o 4 m de altura, con tallos espinosos y velludos, hojas persistentes opuestas, toscas, ovaladas, dentadas y terminadas en punta, color verde oscuro; florece desde octubre a marzo, repitiendo la floración con menos intensidad en otoño; las flores son tubulares, se reúnen en una umbela de varios colores; la roja con amarillo es la más conocida. Según la variedad y edad de la planta, los colores de su floración tienen variaciones.

También existe una especie llamada *Lantana montevidensis*, de flores en umbela color azulino lavanda y que es muy adecuada como cubresuelo en lugares templados.

Las flores se transforman en pequeños frutos similares a los granos de pimienta verde y después, a la madurez, de color negro violáceo. Es rustica y no tiene mayores exigencias. El terreno fértil del jardín es suficiente para producir un hermoso ejemplar. El exceso de abono nitrogenado produce plantas muy desarrolladas y poca floración. Se reproduce por esquejes de tallos tiernos en primavera y de tallos maduros en verano.

Lantana camara es una especie agresiva, de gran desarrollo mientras que *L. montevidensis* es achaparrada, lo que la hace útil como cubresuelo. Florece de setiembre a abril. ⁽⁴¹⁾

2.2.2.2. Género Lantana

EL nombre del género, *Lantana*, es el nombre galo de la morrionera (*Viburnum lantana*. n.º 334, familia de las caprifoliáceas) que está emparentado con el latín *lentus*: flexible, tenaz, porque las ramas de la morrionera se han empleado para hacer ataduras. La bandera española o cariaquito tiene unas hojas, ramas e incluso frutos muy parecidos a los de la morrionera, lo que motivó el que muchos botánicos anteriores a Linneo la llevaran al género *Viburnum*. El género es de Charles Plumier (1646-1704), quien lo denominó *Camara*. Linneo, a quien se atribuye hoy en día por motivos legales, le cambió el nombre. ⁽⁴²⁾



Figura 2. *Lantana camara* (Lantana)

2.2.2.3. Especie *Lantana Camara*

Descripción botánica

Lantana camara, conocida como Lantana, es un arbusto muy ramificado, que se presenta de variadas formas desde macollas compactas de 1-2 m de altura hasta enredaderas trepadoras de hasta 8 m de altura. Sus tallos velludos son de sección transversal cuadrada, usualmente con espinas encorvadas. Las hojas son apareadas, de peciolo corto, ovales, con puntas obtusas, márgenes dentados, pelos finos, venas prominentes por el envés y olor fuerte cuando son aplastadas. Sus pequeñas flores son blancas, rosadas, amarillas, anaranjadas o rojas, con centros amarillos y se presentan en densos racimos entre las hojas. Los frutos verdes y globulares contienen una sola semilla leñosa y al madurar toman coloración negro-purpúrea. ⁽⁴⁶⁾

Sinonimia Vulgar

Entre sus nombres populares tenemos Cambarà (Brasil), filigrana (Cuba), venturosa, huesito, curaverrugas (Colombia); cinco negritos (El Salvador); corronchocho (Guatemala); orozuz del país, siete colores (México); venturosa colorada (Venezuela). ⁽⁴⁴⁾ Otros nombres son Moradito, musote, reunión de señoritas. ⁽⁴⁵⁾

Taxonomía

El género *Lantana*, pertenece a la familia Verbenácea dentro de la cual se incluyen entre 40 a 150 especies de las más abundantes de Sudamérica, América Central y el Sur de Norte América, con unas pocas especies en África y Asia (Hooker, 1973). El género ha estado sujeto a una taxonomía con incertidumbre, con muchas especies (Howard, 1969).⁽⁴³⁾

TABLA 2. Clasificación Taxonómica de *Lantana camara*
“Lantana” ⁽⁴³⁾

Cuadro 1. Clasificación taxonómica Lantana	
Categoría	Descripción de la categoría
Subreino	Tracheobionta
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Lamiales
Familia	Verbenaceae
Género	<i>Lantana</i>
Especie	<i>Lantana camara</i>

(Lowe, et al., 2012)

Distribución geográfica

Esta planta es nativa de las zonas tropicales y subtropicales de América, y las cálidas libres de heladas, al nivel del mar y hasta elevadas altitudes, pero su cultivo ha sido expandido a nivel mundial, generalmente para uso ornamental ⁽⁴⁶⁾.

Actualmente se podría contar hasta 50 especies cultivadas bajo cientos de nombres ⁽⁴⁷⁾

En el Perú abunda tanto en estado silvestre como cultivada, pudiendo ser hallada en todas las regiones hasta 2000 m.s.n.m. (47, 48, 49)

Composición fitoquímica

La fitoquímica de *Lantana camara* es compleja, con una gran variedad de metabolitos secundarios, que incluyen triterpenos, mono y sesquiterpenos, glucósidos iridoides y feniletanoides, furanonaftoquinonas y flavonoides, entre otros. Entre estos triterpenos se encuentran los lantadenos A y B, triterpenoides pentacíclicos considerados responsables de los efectos tóxicos de la planta. (50)

Las hojas contienen 0.3-0.7 % del alcaloide lantanina (lantadeno A) y 0.2 % de lantadeno B, icterogenina, ácidos terénicos como el ácido lantanólico, lantánico, 3-cetoursólico y lantanílico; 0.05 -0.2 % de aceite esencial que contiene citral y otros sesquiterpenos, hasta el 80 % de beta-carifileno, y 10-12 % de felandreno, d-penteno, terpineol, geraniol, linalool, cincol, eugenol y furfural; taninos, resinas, azúcares reductores, ácido lantanólico y lantánico, ácido láctico, 3-m oxirsolto, lancamarona, un esteroide cetónico, compuestos tripterpénicos, (51)

Las flores contienen antocianinas, caroteno, 0.07 % de aceite esencial. (52)

Actividad citotóxica

El principio tóxico encontrado en esta planta es un triterpeno derivado: lantanina (lantadeno A), alcaloide semejante a la quinina que se encuentra en el fruto verde. Se metaboliza en el hígado y se excreta por bilis, al momento en que genera una lesión hepática da a lugar la acumulación de fitoeritrina, ocasionando así hipersensibilidad a la luz solar; a este tipo de fotosensibilización de origen hepático se le conoce también

como Secundaria o Hepatógena. ⁽⁵⁰⁾

El contenido de lantadenos en las diferentes variedades de *L. camara* no es siempre el mismo, y se ha encontrado que las variedades tóxicas contienen niveles mínimos de lantadenos A y B de 80 y 200 mg/Kg, respectivamente. ⁽⁵¹⁾

Es tóxico para animales y la planta produce dermatitis en humanos. Los síntomas agudos se asemejan al envenenamiento por atropina. Los síntomas de envenenamiento son gastroenteritis intensa, vómitos, diarreas, debilidad muscular, cianosis, ictericia, midriasis, ataxia y colapso circulatorio. ⁽⁵²⁾

223. *Spodoptera frugiperda* “Gusano cogollero de maíz”

2.2.3.1. Aspectos generales de *Spodoptera frugiperda* (J E. Smith)

Especie polífaga, llamado comúnmente “gusano cogollero”, “perforador del cogollo del maíz”, “cogollero de maíz”. En el Perú, se la puede localizar en la costa, sierra y selva, ya que es considerada una plaga clave en una gran variedad de cultivos aparte del de maíz, por ejemplo: espárrago, alcachofa, pimiento, páprika y otros 60 cultivos más. ^(2, 53)

Síntoma típico de la presencia del insecto es la excreta fresca que deja sobre el cogollo. El daño que puede causar va desde raspar las hojas (daño llamado “ventanilla”) hasta actuar como langosta medidora, comiendo las hojas del maíz dejando únicamente la vena central de las hojas. ⁽⁵³⁾

2.2.3.2. Taxonomía:

La especie *Spodoptera frugiperda* “Cogollero de maíz” presenta la siguiente clasificación taxonómica:

Tabla 3. Clasificación Taxonómica de *Spodoptera frugiperda* “Cogollero de maíz”.

<i>Taxonomía Spodoptera frugiperda</i>	
Reino	Animalia
Sub Reino	Bilateria
Infra Reino	Protostomia
Super Division	Ecdysozoa
División	Arthropoda
Sub Division	Hexapoda
Clase	Insecta
Sub Clase	Pterygota
Infra Clase	Neoptera
Super Orden	Holometabola
Orden	Lepidoptera
Familia	Noctuidae Latreille
Tribu	Prodeniini
Genero	Spodoptera
Especie	<i>Spodoptera frugiperda</i>

Fuente: Integrated Taxonomic Information System. Disponible en: <https://www.itis.gov/>

2.2.3.3. Ciclo de vida

Spodoptera frugiperda presenta el siguiente ciclo de vida:

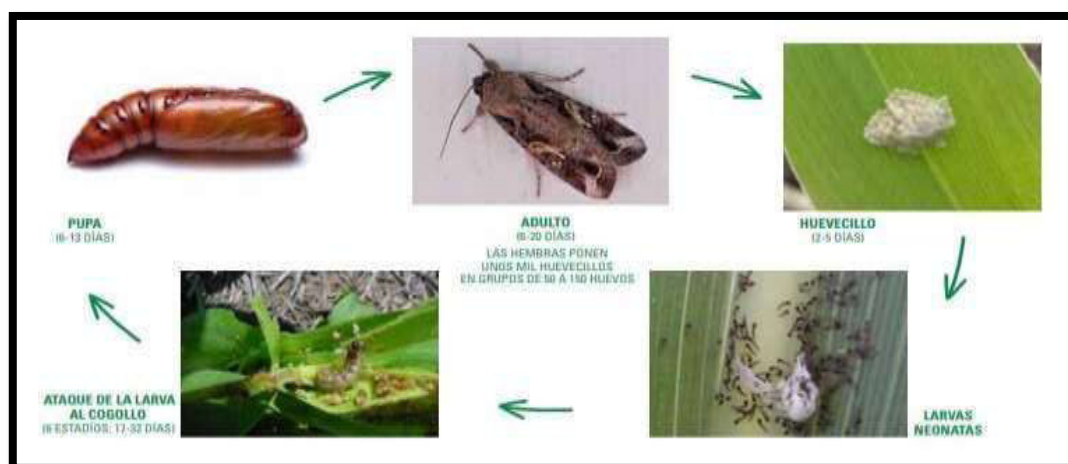


Figura 3: Ciclo de vida de *Spodoptera frugiperda*

Fuente: Manejo de Gusano Cogollero en cultivos de Maíz - Boletín. Disponible en: https://www.pioneer.com/CMRoot/international/Argentina_Intl/AGRONOMIA/MANEJO_DE_GUSANO_COGOLLERO_EN_MAIZ.pdf

El ciclo completo de la plaga puede durar entre 30 y 70 días, siendo más corto en condiciones de mayor temperatura y viceversa. Se divide en cuatro estados: pupa, adulto, huevo y larva. La duración de los mismos varía: Como pupa entre 6-13 días; como adulto, 6 a 20 días; como huevo, entre 2-5 días; y, como larva, entre 17 a 32 días. ⁽⁵⁴⁾.

2.2.3.4. Morfología

2.2.3.4.1. Pupas

Estadio propio de la familia Noctuidae, llegan a medir 18 mm, se caracteriza por ser de color marrón caoba, tórax y abdomen visibles. La exposición a bajas temperaturas (< a 2°C) durante períodos breves (< 4 días) mata las pupas. ^(2,53)

2.2.3.4.2. Adultos

Se caracterizan por presentar dimorfismo sexual, cabeza pequeña, antenas filiformes ⁽⁵³⁾ y una expansión alar entre 30 a 38 mm. (2) A nivel de género presentan las siguientes diferencias:

- a. Hembra: alas anteriores de color gris uniforme, a marrón apenas perceptible. ojos conspicuos, abdomen y tórax pubescentes de color ceniza, siendo el tórax de color más oscuro. ⁽⁵³⁾
- b. Macho: alas anteriores color pardo grisáceo con manchas irregulares y claras hacia la región central y una mancha blanquecina notoria hacia el ápice, ojos prominentes, tórax y abdomen de color ceniza. ⁽⁵³⁾

2.2.3.4.3. Huevos

Mide aproximadamente 0.5 mm de color blanco amarillento cuando están recién puestos y posteriormente toman una coloración marrón rojiza cuando están por eclosionar. ⁽⁵³⁾

2.2.3.4.4. Larvas

Las características varían de estadio a estadio. *Spodoptera frugiperda* presenta seis estadios larvales desde su eclosión:

- Estadio larval 1 (L1): 3 mm. La larva recién emergida tiene la cabeza más grande que el resto de su cuerpo. Además, las setas (vellosidades) en todo su cuerpo son muy visibles. A medida que se desarrolla, su cabeza se hace más proporcional con su cuerpo y las setas se hacen menos visibles. (54,55)
- Estadio larval 2 (L2): 5 - 7 mm. La larva recién cambia de estadio, lucen totalmente hialinas, y los tubérculos de donde se desprenden las setas se hacen más notorios. (54,55)

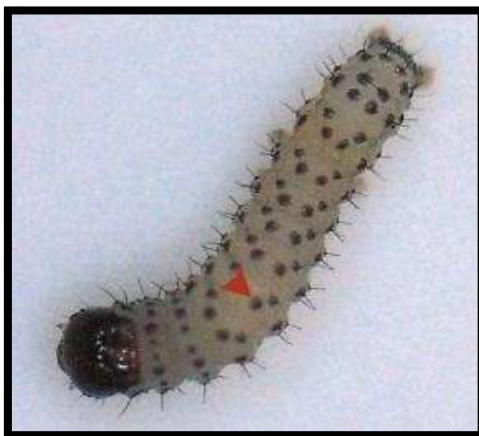


Figura 4: *Spodoptera frugiperda*, estadio larval 2

Fuente: Centro de Internacional de Agricultura Tropical/ Identificación de Estadios Larvales de Lepidópteros Plaga de Maíz. Disponible en: http://ciat-library.ciat.cgiar.org/Articulos_Ciat/biblioteca/CIAT_IDENTIFICACION_DE_ESTADIOS_LARVALES_DE_LEPIDOPTEROS_PLAGA_MAIZ.pdf

A medida que pasa el tiempo, la larva desarrolla bandas antocianóticas en el costado.



Figura 5: *Spodoptera frugiperda*, estadio larval 2

Fuente: Centro de Internacional de Agricultura Tropical/ Identificación de Estadios Larvales de Lepidópteros Plaga de Maíz. Disponible en:

http://ciatlibrary.ciat.cgiar.org/Articulos_Ciat/biblioteca/CIAT_IDENTIFICACION_DE_ESTADIOS_LARVALES_DE_LEPIDOPTEROS_PLAGA_MAIZ.pdf

- Estadio larval 3 (L3): 8 - 10 mm. En este estadio, se empieza a desarrollar una coloración rojiza por todo su cuerpo. Con el desarrollo de la larva, se evidencia una banda oscura en el costado. ^(54,55)
- Estadio larval 4 (L4): 11 - 15 mm. En este estadio, la larva presenta tubérculos casi incoloros. De igual forma, su cabeza presenta una tonalidad clara. En este estadio, se define completamente la “Y” invertida o sutura epicraneal de la cabeza. Por otro lado, se demarcan anillos concéntricos en la zona torácica. ^(54,55)
- Estadio larval 5 (L5): 15 - 20 mm. La larva toma un color café oscuro, al tiempo que sus setas son muy poco visibles. Adicionalmente en esta etapa, se desarrollan puntos en cada segmento abdominal. ^(54,55)
- Estadio larval 6 (L6): + 20 mm. La larva en este estadio tiene una apariencia robusta, con una tonalidad brillante.

Por otra parte, se observa una mancha rojiza en el primer segmento del tórax, la cual fácilmente puede identificar este estadio. ^(54,55)

2.2.3.5. Manejo del “Gusano Cogollero”

A manera general el control de esta especie puede realizarse teniendo en cuenta una buena preparación del terreno, eliminación de malezas que se encuentran al contorno del campo de cultivo de maíz, evitar siembras de verano, para plantas en crecimiento lento aplicar fosforados o carbamatos de mediana acción residual y para las de crecimiento rápido aplicar insecticidas granulados al cogollo del maíz. ⁽⁵⁷⁾

Puntualmente, se puede hacer control químico, biológico o etológico de la plaga:

- Control Químico:

Método de control comúnmente utilizado. En el Perú, se usa insecticidas tales como Alfacipermetrina, clorpyrifos o metomyl a concentración de 20 a 40 cc por 20 litros de agua, y se aplica cuando las plantas tengan de 3 a 6 hojas. Debido a que el cogollero se vuelve resistente al insecticida, se recomienda variar de plaguicida de campaña a campaña y nunca usar el mismo dos campañas seguidas. ^(2,56)

- Control Biológico:

Para este tipo de control se reprime a la plaga a través de sus enemigos naturales o controladores biológicos: parasitoides, insectos que viven dentro del cuerpo de las plagas y se alimentan de ellas hasta matarla, Ej.: *Telenomus remus*, *Tachinidae*, *Braconidae*; predadores,

insectos que se alimentan de la plaga (presa) rápidamente, Ej.: *Crysoperla externa*, *Rhinacloa sp.*, *Ze/us spp.*, *Parathripleps Jaeviusculus*, entre otros más; o entomopatógenos, microorganismos que causan enfermedades a las plagas hasta ocasionar la muerte, Ej.: hongos, bacterias, virus, nemátodos, entre otros. ^(2, 53).

- Control Etológico:

Es el control que se realiza aprovechando los estímulos que se relacionan al comportamiento y que sirven como atrayentes de los insectos. Entre los más usados están: (1) Trampas de Melaza para noctuidos, (2) Trampas de ovoposición para noctuidos del género *Spodoptera*, y (3) Trampas sintéticas de feromonas de *Spodoptera*. ⁽²⁾

En el Perú, se estila poner Trampas de Luz, las cuales se hacen partir de un mechero sobre una bandeja de agua jabonosa y se instalan pasados los 15 días después de la siembra. El mecanismo es que la polilla es atraída por la luz del mechero, y cae al agua ahogándose. ⁽⁵⁶⁾.

224. Insecticidas empleados contra la plaga *Spodoptera frugiperda*

El "cogollero" del maíz, plaga bastante peligrosa y cuyo control mediante los insecticidas en aspersión es poco satisfactorio hasta la fecha, es un grave problema en nuestro país. Este es aún mayor en la costa Norte, donde en los últimos años es cada vez más difícil reducir las poblaciones. Los insecticidas aplicados al cogollo parecen ofrecer mayores posibilidades de control, ya que, además de su buena acción inmediata, presentan un largo poder residual.

⁽⁵⁸⁾

Para reducir los daños ocasionados por *S. frugiperda* los agricultores aplican productos agroquímicos de variada toxicidad

como método de control, lo que ha llevado consigo a la destrucción de organismos benéficos y residuos de sustancias tóxicas en el aire, el suelo y el agua. ⁽⁵⁹⁾

El método químico es el más común para el control del gusano cogollero, donde la efectividad del método radica principalmente en el ingrediente activo, así como en la calidad y el momento de la aplicación. Entre las sustancias químicas más utilizadas están los compuestos fosforados, carbamatos y piretroides, y en la solución se recomienda la adición de un coadyuvante de tipo surfactante.

⁽⁶⁰⁾

2.2.4.1. Plaguicidas Carbamatos

TOXICOCINÉTICA

Se caracterizan por ser liposolubles, lo cual facilita su ingreso vía cutánea; sin embargo, también se absorbe a través de las vías respiratorias o digestivas. Presentan una vida media de 48 horas. ⁽⁶⁸⁾

Los carbamatos no se acumulan en el organismo es biotransformado mediante enzimas como oxidasas, hidrolasas y glutatión-S-transferasas a través de tres mecanismos básicos: hidrólisis, oxidación y conjugación; finalmente se eliminan principalmente a través de la orina. ⁽⁶⁸⁾

TOXICODINAMIA

El mecanismo de acción de estos pesticidas es a nivel de la transmisión del impulso nervioso. El impulso nervioso se transmite en la sinapsis que es la unión entre dos fibras nerviosas (sinapsis neuronal) o una fibra nerviosa y una muscular (sinapsis neuromuscular) por intermedio de un mediador químico llamado acetilcolina. Una vez que el impulso nervioso llega a la sinapsis se libera acetilcolina, que luego es suprimida por la acción de una enzima, la acetilcolinesterasa.

De no ocurrir esto último la acetilcolina permanecería en la sinapsis generando una cadena continua de impulsos nerviosos. Tanto los pesticidas organofosforados como los carbamatos se unen a la enzima e inhiben su acción. A consecuencia de ello se produce la transmisión constante de los impulsos lo que conduce a una descoordinación del sistema nervioso. ⁽⁶¹⁾

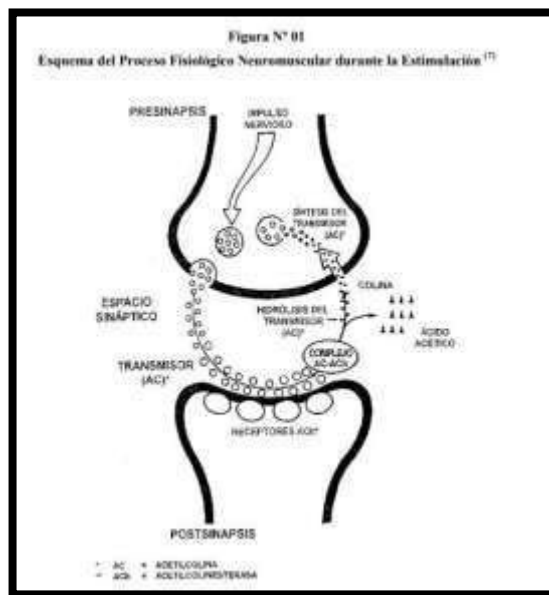


Figura 6. Esquema de proceso fisiológico neuromuscular durante la estimulación. ⁽⁶¹⁾

La Figura 6 muestra la recuperación de la actividad colinesterásica según el grado de intoxicación. En caso de una intoxicación leve, o moderada, como ocurre con los carbamatos que en general son ligeramente tóxico, los signos desaparecen más rápido debido a que la unión de ellos con la acetilcolinesterasa es también velozmente reversible. Cuando la intoxicación es grave, el 100 por ciento de la actividad colinesterásica se recupera recién al cabo de 30 días.

Son neurotóxicos y los signos de intoxicación aparecen rápidamente: náuseas, vómitos, diarreas, lacrimación, contracción pupilar, transpiración excesiva, calambres, convulsiones.

El antídoto utilizado en tales casos es la atropina 1 que produce el efecto contrario a la acetilcolina. ⁽⁶¹⁾

a. Metomyl

Es un insecticida que actúa por contacto e ingestión, del grupo de los carbamatos, altamente tóxico, con un LD50 oral de 17 a 24 y dermal de 5.000. Es un producto prohibido en Malasia y de uso restringido en Estados Unidos, y de amplio espectro. Este insecticida presenta un sinnúmero de efectos tóxicos. En un inhibidor de la colinesterasa en los seres humanos. ⁽⁶²⁾

Nombres comerciales: Lannate, Nudrin

Carencia: 4 a 8 días ⁽⁶²⁾

Efectos agudos: La exposición a este plaguicida puede producir visión borrosa, malestar en el pecho, falta de coordinación muscular, irregularidades coronarias y parálisis muscular. Inhibe la acetil-colinesterasa, pero en forma reversible, con un buen acoplamiento al centro activo de la enzima. ⁽⁶³⁾

Efectos crónicos: Posibles efectos mutágenos debido a que su estructura química es similar a la del carbaril. Puede ser tóxico para los riñones y producir anemia aplásica. Puede provocar neuropatía periférica. Estrógeno ambiental, alterador del sistema reproductor y endocrino. Aumenta la cantidad de esperma anormal en ratones. ⁽⁶³⁾

Efectos ambientales: Peligroso para aves, peces y otros animales silvestres. Tóxico para abejas e insectos benéficos. Además, el Metomyl es sumamente dañino para el ambiente –es altamente tóxico para las aves y los organismos acuáticos. ⁽⁶³⁾

Un estudio realizado para el Banco Mundial reveló que el insecticida Metomyl, junto con el metamidofos y el paraquat, fueron responsables por la mayor parte de los 11.000 a 33.000 casos de envenenamiento por año que se estima suceden en Guatemala. ⁽⁶¹⁾

225. Ensayos de Toxicidad

Los ensayos de toxicidad son los bioensayos empleados para reconocer y evaluar los efectos de los contaminantes sobre la biota. En los bioensayos se usa un tejido vivo, organismo, o grupo de organismos, como reactivo para evaluar los efectos de cualquier sustancia fisiológicamente activa. ⁽⁶⁴⁾

Los efectos tóxicos a evaluar pueden ser: mortalidad, inmovilidad, inhibición del crecimiento de la población, alteración del comportamiento, etc. Se determinan distintas variables como, por ejemplo, la dosis letal 50 (DL50), que es la dosis letal para el 50 % de los individuos expuestos. Las condiciones de los cultivos y los ensayos deben estar altamente estandarizadas para permitir la comparación de los resultados. ⁽⁶⁴⁾

Los ensayos de toxicidad permiten establecer los límites permitidos para los distintos contaminantes, evaluar el impacto de mezclas sobre las comunidades de los ambientes que las reciben y comparar la sensibilidad de una o más especies a distintos tóxicos o a diferentes condiciones para el mismo tóxico. ⁽⁶⁴⁾

Los ensayos pueden ser de laboratorio (con un número reducido de especies, y en condiciones estandarizadas que reproducen sólo en forma muy parcial las condiciones naturales en el ambiente), o de campo (con “encierros” sometidos a las condiciones del medio). Mediante los ensayos de toxicidad se estudian las relaciones dosis o concentración, efecto y dosis o concentración - respuesta (efecto: cambio biológico evaluable por una escala de intensidad o

severidad; respuesta: proporción de la población expuesta que manifiesta un efecto definido). ⁽⁶⁴⁾

TABLA 4. Clasificación Toxicológica para sólidos y líquidos

Clasificación	DL50 (mg/Kg de masa corporal)			
	Oral		Dérmica	
	Sólidos	Líquidos	Sólidos	Líquidos
Muy Tóxico	< 5	<25	≤ 10	≤ 50
Tóxico	5 - 50	25 - 200	10 - 100	50 - 400
Nocivo	50 - 500	200 - 2 000	100 - 1 000	400 - 4 000

Fuente: USO DE PLAGUICIDAS EN LA AGRICULTURA. Disponible en:

<https://www.redalyc.org/pdf/2232/223240764010.pdf>

Se clasifica los plaguicidas principalmente en base a su toxicidad aguda en estudios con animales. Para plaguicidas orales se clasifica en muy tóxicos, tóxicos y nocivo.

2.2.5.1. Dosis Letal

Cantidad de material tóxico por unidad de peso corporal del animal prueba, que es capaz de matar a toda una población en un tiempo determinado. ⁽⁶⁵⁾

2.2.5.2. Dosis Letal Media (DL50)

Cantidad de material tóxico, que como mínimo debe introducirse en cada organismo viviente de un lote de un número determinado (n) de individuos para que produzca muerte de al menos 50 % de ellos, es decir, la muerte de n individuos. Se expresa en mg/kg de peso vivo en condiciones de laboratorio. ⁽⁶⁵⁾

La dosis letal media será distinta para las diferentes sustancias tóxicas, organismos, y vías de penetración. El símbolo es DL50 o LD50. ⁽⁶⁵⁾

2.2.5.3. Tiempo Letal (TL) y Tiempo Letal Medio (TL50)

Interés toxicológico del factor tiempo

El tiempo es un parámetro al que años atrás no se daba la consideración que merece en Toxicología, pero al que hoy se le reconoce la importancia capital. Posiblemente, el cambio tuvo lugar durante los estudios de la toxicidad del paraquat, al observarse que los efectos, incluso las dosis letales, no aparecían inmediatamente, sino después de hasta catorce días; de ahí vino el concepto de *tiempo de latencia*, el que media desde la absorción del tóxico hasta la manifestación del efecto, concepto que, aunque no era nuevo, nunca se había observado tan marcado. Por otra parte, se sabía que, en cualquier intoxicación, los efectos pueden permanecer más o menos tiempo (*tiempo de evolución*), durante el que se pueden producir lesiones o muerte, o finalmente la recuperación del sujeto. Además, como ya se ha visto, el tiempo corto o largo, durante el que se produce la absorción de un tóxico clasifica las intoxicaciones en agudas o crónicas. ⁽⁶⁶⁾

Cuando nos interesa registrar la producción de muerte, manejamos el llamado *tiempo letal* y *tiempo letal medio* (TL y TL50), promedio del tiempo transcurrido en los diferentes individuos, desde la aplicación del tóxico, hasta su muerte; y el TL50, referido al 50 % de los individuos experimentados y posee mayor exactitud. ⁽⁶⁶⁾

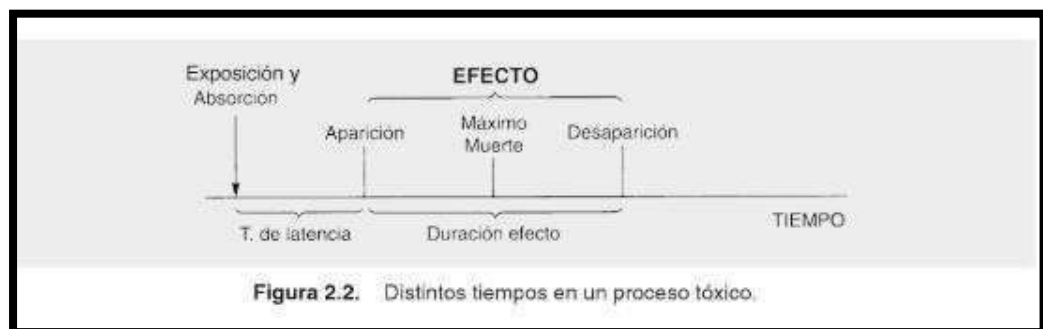


Figura 2.2. Distintos tiempos en un proceso tóxico.

Figura 7. **Etapas durante un proceso tóxico.** ⁽⁶⁶⁾

III. METODOLOGÍA

3.1. Tipo de estudio

- Experimental y analítico.

3.2. Materiales, equipos y reactivos

- Material botánico
 - Hojas de *Tagetes minuta* “Huacatay”
 - Hojas de *Lantana camara* “Lantana”
- Material biológico
 - Larvas *Spodoptera frugiperda* “Gusano cogollero de maíz”
- Equipos de Laboratorio
 - Balanza analítica OHAUS, modelo AP110S, serie N79876
 - Estufa Memmert
 - Micropipeta 5-50 µL modelo Transferpette marca Brand
 - Pipetas
- Materiales de laboratorio
 - Frascos ámbar
 - Embudos
 - Tubos de ensayo
 - Gradillas
 - Placas petri descartables
 - Papel film
 - Cubas cromatográficas
 - Cromatoplacas TLC Sílice gel 60 F24 20 x 20 cm (Merck)
 - Papel filtro Whatman #1
 - Gasa estéril
 - Papel kraft
 - Probetas de 25mL
 - Baguetas de vidrio
 - Vasos de plástico descartables
 - Táperes de plástico
 - Organza

➤ Reactivos

- Agua destilada y bidestilada
- Acetona (Merck)
- Etanol 96 % (Merck)
- Metanol P.A (Merck)
- Cloroformo (Merck)
- n-hexano
- Éter dietílico
- Estándares de ácido gálico y ácido tánico (Merck)
- Estándares de quercetina y rutina (Sigma-Aldrich)
- Tricloruro férrico y tricloruro de aluminio (Merck)
- Agar TSA

3.3. Recolección del material vegetal

La recolección de la muestra vegetal de *Tagetes minuta* (Huacatay) se realizó en las chacras de Canta, departamento de Lima, Perú. La clasificación botánica de la planta fue realizada por el Mg. Hamilton Beltran S., biólogo-taxónomo, en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM).

La recolección de la muestra vegetal de *Lantana camara* (Lantana) se realizó de los jardines del rectorado de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, departamento de Lima, Perú. La clasificación botánica fue realizada por Mg. María Isabel La Torre, bióloga-taxónoma, en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM).

Estabilización de la muestra

La cantidad de planta recolectada fue 5,00 kg por cada una. Se seleccionaron las hojas y se lavaron para eliminar tierra y sustancias extrañas. Luego se secaron a temperatura ambiente, sobre papel Kraft en el Laboratorio de toxicología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, durante seis días y luego se completó el secado en una estufa

marca Memmert a 45 °C. Finalizado el secado, se trituro las muestras de forma manual hasta obtener un polvorizado de ambas.

3.4. Preparación de los extractos etanólicos secos

- a. Extracto etanólico seco de *Tagetes minuta* “Huacatay”: se pesó 20 g de la muestra triturada y se adiciono 1,25 L de etanol de 96 %, en un frasco cerrado herméticamente. Se realizó una agitación mecánica del extracto etanólico por 10 minutos y se almaceno a temperatura ambiente, en la oscuridad y por 7 días para su maceración.

Finalizado los 7 días, se filtró el extracto utilizando una gasa estéril y se realizó un segundo filtrado empleando papel Whatman, con el fin de asegurar la pureza del extracto. El filtrado se colocó en fuentes de material pírex y se llevó a la estufa a 40°C por tres días.

- b. Extracto etanólico seco de *Lantana camara* “Lantana”: se pesó 500 g de la muestra triturada y se adiciono 2,5 L de etanol de 96 %, en un frasco cerrado herméticamente. Se realizó una agitación mecánica del extracto etanólico por 10 minutos y se almaceno a temperatura ambiente, en la oscuridad y por 7 días para su maceración.

Finalizado los 7 días, se filtró el extracto utilizando una gasa estéril y se realizó un segundo filtrado empleando papel Whatman, con el fin de asegurar la pureza del extracto. El filtrado se colocó en fuentes de material pírex y se llevó a la estufa a 40°C por tres días.

3.5. Marcha de solubilidad

Con la finalidad de comprobar la solubilidad de los extractos etanólicos, en diferentes tubos de ensayo, se colocó aproximadamente 5mg del extracto etanólico de cada una de las plantas (*Lantana camara* y *Tagetes minuta*), y se añadió 3mL de

solventes con diferentes polaridades: agua destilada, etanol, metanol, cloroformo, n-hexano y éter dietílico.

3.6. Tamizaje fitoquímico

Se realizó pruebas cualitativas a ambos extractos con la finalidad de determinar la presencia de sus metabolitos secundarios.

TABLA 5. Tamizaje fitoquímico para identificación de metabolitos secundarios

MARCHA FITOQUIMICA	
ENSAYO	METABOLITO IDENTIFICADO
Reacción de Molish	Azúcares
Reacción de Antrona	Azúcares
Reacción Fehling	Azúcares
Reacción Tricloruro Ferrico	Compuestos fenólicos
Reacción de Gelatina	Taninos
Reacción de Lieberman-Burchard	Triterpenoides y esteroides
Reacción Borntrager	Quinonas y naftoquinonas
Reacción de Dragendorff	Alcaloides
Reacción de Mayer	Alcaloides
Reacción de Vainillina- ácido Sulfúrico	Glicósidos
Reacción de Shinoda	Flavonoides

3.7. Cromatografía en capa fina

Determinación de taninos

- *Muestra:* Extractos etanólicos secos de *Lantana camara* y *Tagetes minuta*, recientemente solubilizados en alcohol etílico 96 %.
- *Estándares:* Ácido tánico y gálicos previamente disueltos en alcohol etílico 96 %.
- *Fase estacionaria:* Cromatoplasmas de Thin-layer sílice gel 60 F24 de 20 x 20 cm marca Merck KGa

- *Fase Móvil:* Butanol, ácido acético y agua (4:1:5)
- *Revelador:* luz UV y FeCl₃

Determinación de alcaloides

- *Muestra:* Extractos etanólicos secos de *Lantana camara* y *Tagetes minuta*, recientemente solubilizados en alcohol etílico 96 %.
- *Estándares:* Papaverina previamente disuelto en alcohol etílico 96 %.
- *Fase estacionaria:* Cromatoplasmas de sílice gel 60 F24 de 20 x 20 cm marca Merck KGa
- *Fase Móvil:* Cloroformo: metanol (8:2)
- *Revelador:* Reactivo de Dragendorff

Determinación de esteroidales

- *Muestra:* Extractos etanólicos secos de *Lantana camara* y *Tagetes minuta*, recientemente solubilizados en alcohol etílico 96 %.
- *Estándares:* extractos de raíz de *Polygala virginiana* y raíz de *Smilax* “zarzaparrilla” que se obtuvieron por cocimiento en baño a 70° por 20 minutos, previamente reducidos de tamaño.
- *Fase estacionaria:* Cromatoplasmas de sílicagel 60 F24 de 20 x 20 cm marca Merck KGa
- *Fase Móvil:* Etanol: butanol: hidróxido de amonio (2:5:7)
- *Revelador:* Vainillina y H₂SO₄ al 10 % y posteriormente se calentó en cocinilla, a 105°.

Determinación de flavonoides

- *Muestra:* Extractos etanólicos secos de *Lantana camara* y *Tagetes minuta*, recientemente solubilizados en alcohol etílico 96 %.
- *Estándares:* Rutina y quercetina, previamente disueltos en alcohol etílico 96 %
- *Fase estacionaria:* Cromatoplasmas de sílice gel 60 F24 de 20 x 20 cm marca Merck KGa
- *Fase Móvil:* Acetato de etilo: metanol: agua (100:13,5:10)

- *Revelador*: Luz UV y AlCl_3 al 10 %.

3.8. Recolección del material biológico

La recolección del material biológico *Spodoptera frugiperda*, fueron obtenidas de las plantaciones de la Universidad de Trujillo, departamento de La Libertad, Trujillo; Perú, La clasificación fue realizada por la Ms. C, Alda Esther Carbajal Villaverde C.B.P. 1219, bióloga-taxónoma, en la facultad de Biología, en la Universidad Nacional de Trujillo (UNT).

3.9. Crianza de *Spodoptera frugiperda*

Colecta en campo:

- Se efectuó colectas manuales, de larvas L4, L5 y L6, durante los meses de julio de 2017 a julio de 2018 en plantaciones de maíz de la Universidad Nacional de Trujillo, específicamente de aquellas hojas con signo de defoliación y restos de excrementos de la larva, para luego trasladarlas al laboratorio.

Crianza de *Spodoptera frugiperda* L2

- En un táper grande de plástico, las larvas colectadas se separaron individualmente en vasos descartables de una onza, a los cuales, previamente, se le puso un trozo de papel toalla sobre la base, para controlar la humedad y facilitar la limpieza, agregando una hoja tierna de maíz, para su alimentación.

Luego, cada vaso se cerró con tela organza, sujeta por una liga elástica.

- La provisión de hojas y limpieza del envase, se realizó diariamente, hasta que la larva llegue al estado de pupa, luego de lo cual, se interrumpió la administración de alimento.

Para mantener la viabilidad de las pupas, se mantuvo húmedo el papel toalla de la base, hasta la emergencia de los adultos,

manteniendo tapados los vasos con la organza.

- Una vez ocurrida la emergencia de los adultos, tanto hembras como machos fueron colocados dentro de un recipiente plástico transparente y se las alimentó con una mezcla de agua hervida y miel de abeja, en proporción 1:1, colocado en un trozo de algodón, que a su vez se ubica sobre una tapa de botella plástica descartable.

A partir del tercer día, se revisó a diario la presencia de posturas.

- Las masas de huevos o posturas estas fueron separadas y colocadas en recipientes pequeños hasta la eclosión de las mismas. Las larvas recién eclosionadas fueron alimentadas con hojas tiernas de maíz, hasta llegar a estadio larval 2, lo que ocurre en aproximadamente 8 a 9 días.

Dieta Natural: Germinado de Maíz

El alimento de las larvas a lo largo de su crianza fue germinado de maíz, y se preparó de la siguiente manera:

- Durante 24 horas se remojó aproximadamente medio kilo de maíz amarillo duro entero. Al cabo de ese tiempo, se colocaron las semillas en una bandeja plástica acondicionada con tres agujeros medianos en uno de los extremos de la base, para facilitar la eliminación de exceso de agua.
- Se mantuvo cubierto con papel periódico húmedo y en una zona oscura, hasta notar el crecimiento del coleóptilo, después de lo cual se pasó a exponer a luz solar, siempre manteniendo la humedad constante, asegurando así el crecimiento de las hojas tiernas de maíz.
- Una vez el germinado tenía alrededor de 15 a 10 días, o alcanzaba los 10 cm de longitud, estos podían ser empleados para la

alimentación de las larvas. Este proceso se realizó en intervalos de 15 días, para asegurar la provisión de alimento fresco y nutritivo para las larvas.

3.10. Determinación del efecto tóxico (DL50 Y TL50) de los extractos etanólicos de *Lantana camara* y *Tagetes minuta*.

Preparación de las concentraciones de extracto etanólico seco de *Lantana camara*

Para determinar la dosis necesaria para matar al 50 % de la población larval de *Spodoptera frugiperda* en estadio larval 2, se preparó una solución madre con concentración de 20 000 ppm (400 mg/20 mL) y de esta se realizaron las siguientes diluciones: 4 000 ppm, 6 000 ppm, 8 000 ppm, 10 000 ppm y 12 000 ppm, con las cuales se evaluó el efecto tóxico comparadas con un blanco y un estándar (Metomyl).

Preparación de las concentraciones de extracto etanólico seco de *Tagetes minuta*

Para determinar la dosis necesaria para matar al 50 % de la población larval de *Spodoptera frugiperda* en estadio larval 2, se preparó una solución madre con concentración de 2 0000 ppm (200 mg/10 mL) y de esta se realizaron las siguientes diluciones: 700 ppm, 800 ppm, 850 ppm, 900 ppm y 950 ppm, con las cuales se evaluó el efecto tóxico comparadas con un blanco y un estándar (Metomyl).

Aplicación de los extractos etanólicos secos

Se sumergieron discos de 1 cm² de hojas de maíz en diferentes recipientes que contenían las concentraciones del extracto etanólico a evaluar, el blanco y el estándar; por 5 minutos antes de ser introducidos a las placas Petri. Cada unidad experimental se realizó en una placa Petri de plástico, sellada con papel film, la cual contenía una película de agar (TSA) para sostener el disco de

hoja de maíz de 1 cm² (7,8 mg aproximadamente) y a la larva en estadio larval 2.

Para cada tratamiento se utilizó 126 larvas del segundo instar en total, empleando 6 larvas por cada concentración, ubicadas individualmente en placas Petri, de la misma forma, se utilizó 6 larvas para el blanco y 6 para el estándar. La evaluación se realizó a las 1, 4, 12, 24 y 48 horas con la finalidad de obtener el tiempo letal medio (TL50), las larvas muertas fueron retiradas con su respectiva placa; se realizó el ensayo por triplicado.

La mortalidad de las larvas se determinó por medio de la observación continua de aquellas que no presentaban actividad locomotora propia ya sea de forma espontánea o estimulada por una pinza o pincel, criterio que está establecido en los protocolos de la OMS ⁽⁷³⁾.

Análisis de datos

En el análisis estadístico se calculó la dosis letal media (DL50), con la ayuda del análisis de regresión logarítmico PROBIT, a través del programa estadístico SPSS 22.

IV. RESULTADOS

4.1. Marcha de solubilidad

- El extracto etanólico seco de *Lantana camara* resultó ser soluble en solventes orgánicos e insoluble en agua.
- El extracto etanólico seco de *Tagetes minuta* resultó ser soluble en solventes orgánicos e insoluble en agua.

Tabla 6. Ensayo de solubilidad del extracto etanólico seco de *Tagetes minuta* “Huacatay”

Solvente	Extracto etanólico <i>Tagetes minuta</i>
Agua destilada	-
Alcohol etílico 96 %	+++
Metanol	+++
Cloroformo	+++
n-hexano	+++
Éter dietílico	+++

Leyenda: (-) Insoluble, (+) Poco soluble, (++) Medianamente soluble, (+++) Soluble, (+++++) Muy soluble.

Tabla 7. Ensayo de solubilidad del extracto etanólico seco de *Lantana camara* “Lantana”

Solvente	Extracto etanólico <i>Lantana camara</i>
Agua destilada	-
Alcohol etílico 96 %	+++
Metanol	+++
Cloroformo	+++
n-hexano	+++
Éter dietílico	+++

Leyenda: (-) Insoluble, (+) Poco soluble, (++) Medianamente soluble, (+++) Soluble, (+++++) Muy soluble.

4.2. Tamizaje fitoquímico

La marcha fitoquímica del extracto etanólico seco de *Tagetes minuta*, demostró la presencia de azúcares, taninos, triterpenoides, alcaloides y esteroides, y ausencia de naftoquinonas y quinonas. Con respecto al extracto etanólico seco de *Lantana camara*, se evidencio la presencia de azúcares, taninos, triterpenoides, alcaloides y esteroides en mayor proporción, y quinonas en menor proporción.

Tabla 8. Tamizaje fitoquímico de los extractos etanólicos secos de *Tagetes minuta* y *Lantana camara*

Metabolito	Reacción	Extracto etanólico	
		<i>Tagetes minuta</i>	<i>Lantana camara</i>
Azúcares	Molish	+++	+++
	Antrona	+++	+++
	Fehling	+++	+++
Taninos	Tricloruro de hierro	+++	+++
	Gelatina	++ (pp. Blanco)	+++ (pp. Blanco)
Triterpenoides y esteroides	Lieberman-Burchardt	+++	+++
Naftoquinonas y quinonas	Borntrager	+	-
Alcaloides	Draguendorff	+++	+++
	Mayer	+++	+++
Glicósidos	Vainillina	+++	+++

Leyenda: (-) ausencia de metabolito, (+) Baja presencia del metabolito, (++) Ligera presencia del metabolito, (+++) Elevada presencia del metabolito.

4.3. Cromatografía en capa fina

Determinación de taninos

Se observó mayor concentración de ácido gálico, después de revelar con tricloruro férrico, y sus distancias recorridas fueron similares al

estándar ($R_f = 0.98$) lo que indicaría mayor presencia de taninos hidrolizables.

Muestra: Extractos etanólicos secos de *Lantana camara* y *Tagetes minuta*, recientemente solubilizados en alcohol etílico 96 %

Estándares: Ácido tánico previamente disueltos en alcohol etílico 96 %

Se obtuvo distancia Fase móvil: 6,0 cm; distancia St. Ac. T.: 5,9 cm R_f : 0,98; distancia EEH: 5,6 cm R_f : 0,93 y distancia EEL: 5,6 cm R_f : 0,93.



Figura 8. Cromatograma con estándar de Taninos. Ac. T: Ácido Tánico, EEH: Extracto Etanólico *Tagetes minuta* “Huacatay”, EEL: Extracto etanólico *Lantana*.

Así mismo, se observó con mayor intensidad la presencia de taninos en las tres muestras, al revelar el tricloruro férrico; las muestras mostraron distancias recorridas similares al estándar Ácido gálico (R_f . 0.92)

Muestra: Extractos etanólicos secos de *Lantana camara* y *Tagetes minuta*, recientemente solubilizados en alcohol etílico 96 %

Estándares: Ácido gálico previamente disueltos en alcohol etílico 96 %

Se obtuvo distancia Fase móvil: 6,0 cm; distancia St. Ac. G.: 5,5 cm Rf: 0,92; distancia EEH: 5,8 cm Rf: 0,97; y distancia EEL: 5.5 cm Rf: 0,92.



EEH AC EEL

Figura 9. Cromatograma con estándar de Taninos. Ac. G: Ácido Gálico, EEH: Extracto etanólico *Tagetes minuta* “Huacatay”, EEL: Extracto etanólico *Lantana*.

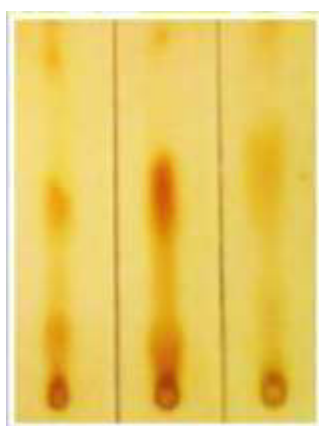
Determinación de alcaloides

Ambas muestras mostraron presencia de alcaloides, con recorrido similar al del estándar de papaverina (Rf).

Muestra: Extractos etanólicos de *Lantana camara* y *Tagetes minuta*, recientemente solubilizados en alcohol etílico 96 %

Estándares: Papaverina previamente disuelto en alcohol etílico 96 %

Se obtuvo distancia Fase móvil: 6,0 cm; distancia St. Papaverina: 4,5 cm Rf: 0,75; distancia EEH: 4.5 cm Rf: 0,75; y distancia EEL: 4.7 cm Rf: 0,78



EEH P EEL

Figura 10. Cromatograma con estándar de alcaloides. P: Papaverina, EEH: Extracto etanólico *Tagetes minuta* “Huacatay”, EEL: Extracto etanólico *Lantana*.

Determinación de metabolitos esteroidales

En el caso de las cromatografías para evaluar metabolitos esteroidales, después de ser revelado y luego de ser calentado en cocinilla, se observó mayor concentración en el extracto etanólico seco de *Tagetes minuta* “Huacatay” (RF = 0,80) cuya mancha se encontró en una altura cercana al estándar raíz de *Smilax* (Rf = 0,77) lo que indicaría la presencia de saponinas triterpenoides.

Muestra: Extractos etanólicos de *Lantana camara* y *Tagetes minuta*, recientemente solubilizados en alcohol etílico 96 %

Estándares: extractos de raíz de *Smilax* “zarzaparrilla”

Se obtuvo distancia Fase móvil: 6,0 cm; *distancia St. Zarzaparrilla.:* 4.6 cm Rf: 0,77; *distancia EEH:* 4.8 cm Rf: 0,80; y *distancia EEL:* 4,4 cm Rf: 0,73



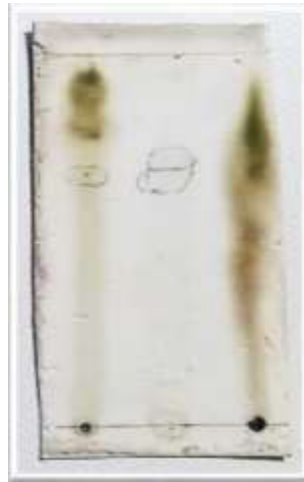
EEH St. Za EEL

Figura 11. Cromatograma con estándar de Esteroides. Z: Zarzaparrilla, EEH: Extracto etanólico Huacatay, EEL: Extracto etanólico Lantana.

Muestra: Extractos etanólicos de *Lantana camara* y *Tagetes minuta*, recientemente solubilizados en alcohol etílico 96 %

Estándares: extractos de raíz de *Polygala virginiana*.

Se obtuvo distancia Fase móvil: 6,0 cm; distancia St. Polig.: 4.2 cm Rf: 0,70; distancia EEH: 4.1 cm Rf: 0,68; y distancia EEL: 3.8 cm Rf: 0,63.



EEH St.P EEL

Figura 12. Cromatograma con estándar de esteroides. P: Poligola, EEH: Extracto etanólico *Tagetes minuta* "Huacatay", EEL: Extracto etanólico Lantana.

Determinación de flavonoides

En la cromatografía para determinación de flavonoides se mostró mayor intensidad en el extracto etanólico seco de *Tagetes minuta* "Huacatay", cuyo RF, es similar con el estándar de Quercetina (Rf = 0.98), y el estándar de Rutina (Rf = 0.63), en sus cromatoplasas respectivas.

Muestra: Extractos etanólicos de *Lantana camara* y *Tagetes minuta*, recientemente solubilizados en alcohol etílico 96 %

Estándares: Rutina previamente disuelto en alcohol etílico 96 %

Se obtuvo distancia Fase móvil: 6,0 cm; distancia St. Rutina.: 3.8 cm Rf: 0,63; distancia EEH: 3.9 cm Rf: 0,65; y distancia EEL: 3.5 cm Rf: 0,58



EEH R EEL

Figura 13. Cromatograma con estándar de flavonoides. R: Rutina, EEH: Extracto etanólico *Tagetes minuta* "Huacatay", EEL: Extracto etanólico *Lantana*.

Muestra: Extractos etanólicos de *Lantana camara* y *Tagetes minuta*, recientemente solubilizados en alcohol etílico 96 %

Estándares: Quercetina Rutina previamente disuelto en alcohol etílico 96 %

Se obtuvo distancia Fase móvil: 6,0 cm; *distancia St. Rutina.:* 5.8 cm Rf: 0,97; *distancia EEH:* 5.8 cm Rf: 0,97; y *distancia EEL:* 5.8 cm Rf: 0,97



EEH Q EEL

Figura 14. Cromatograma con estándar de flavonoides. Q: Quercetina, EEH: Extracto etanólico *Tagetes minuta* "Huacatay", EEL: Extracto etanólico *Lantana*.

4.4. Determinación del DL50 Y TL50 de los extractos etanólicos secos de *Lantana camara* y *Tagetes minuta*.

Peso de larvas de *Spodoptera frugiperda*

Las larvas seleccionadas para el bioensayo presentaron un rango de peso entre 5,4 mg y 6,7 mg, siendo el peso promedio calculado 6.05 mg realizado en la balanza analítica Mettler Toledo, en el laboratorio de Toxicología, en la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Alimentación de *Spodoptera frugiperda* estadio Larval 2

Todas las larvas es estadio larval 2 fueron alimentadas con un disco de hoja de maíz con un diámetro de 1 cm² con un peso promedio de 7,8 mg, del cual se estima que, durante las 48 horas de observación, las larvas ingirieron en promedio 0.975 mg (aproximadamente una octava parte del disco).

Extracto etanólico seco de *Tagetes minuta* “Huacatay”

En la tabla 9,10 y 11, se muestran el número de larvas *Spodoptera frugiperda* muertas para cada dosis y concentración de extracto etanólico seco de *Tagetes minuta*. Como se puede observar a mayor dosis y concentración, mayor es número de muertes por hora.

Tabla 9. Mortalidad por hora de *Spodoptera frugiperda* estadio larval II (número de individuos muertos), de acuerdo con la dosis y concentración del extracto etanólico seco de *Tagetes minuta*. (Primera repetición)

Tratamientos (Primera repetición)		1	4	12	24	48	Total de
Dosis (mg/kg)	Concentraciones (ppm)	Hora	horas	horas	horas	horas	muertes
Control	(Etanol 96 %)	6/0	6/0	6/0	6/0	6/0	0
6.825 x 10 ⁻⁴	700 ppm	6/0	6/0	6/0	4/2	4/2	2
7.800 x 10 ⁻⁴	800 ppm	4/2	4/2	3/3	3/3	3/3	3
8.288 x 10 ⁻⁴	850 ppm	4/2	4/2	2/4	1/5	1/5	5
8.775 x 10 ⁻⁴	900 ppm	4/2	4/2	0/6	0/6	0/6	6
9.263 x 10 ⁻⁴	950 ppm	4/2	4/2	0/6	0/6	0/6	6
Metomyl 900	Metomyl (9mg/10mL)	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	6

El total de larvas empleadas por tratamiento fueron 6, y se describen como VIVAS/MUERTAS

Tabla 10. Mortalidad por hora de *Spodoptera frugiperda* estadio larval II (número de individuos muertos), de acuerdo con la dosis y concentración del extracto etanólico seco de *Tagetes minuta*. (Segunda repetición)

Tratamientos (Segunda repetición)		1	4	12	24	48	Total de
Dosis (mg/kg)	Concentraciones (ppm)	hora	horas	horas	horas	horas	muerres
Control (Etanol 96%)		6/0	6/0	6/0	6/0	6/0	0
6.825 x 10⁻⁴	700 ppm	6/0	6/0	5/1	4/2	4/2	2
7.800 x 10⁻⁴	800 ppm	4/2	4/2	3/3	3/3	3/3	3
8.288 x 10⁻⁴	850 ppm	4/2	4/2	2/4	2/4	1/5	5
8.775 x 10⁻⁴	900 ppm	4/2	4/2	1/5	0/6	0/6	6
9.263 x 10⁻⁴	950 ppm	4/2	4/2	0/6	0/6	0/6	6
Metomyl 900	Metomyl (9 mg/10mL)	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	6

El total de larvas empleadas por tratamiento fueron 6, y se describen como VIVAS/MUERTAS

Tabla 11. Mortalidad por hora de *Spodoptera frugiperda* estadio larval II (número de individuos muertos), de acuerdo con la dosis y concentración del extracto etanólico seco de *Tagetes minuta*. (Tercera repetición)

Tratamientos (Tercera repetición)		1	4	12	24	48	Total de
Dosis (mg/kg)	Concentraciones (ppm)	Hora	horas	horas	horas	horas	muerres
Control (Etanol 96%)		6/0	6/0	6/0	6/0	6/0	0
6.825 x 10⁻⁴	700 ppm	6/0	6/0	4/2	4/2	4/2	2
7.800 x 10⁻⁴	800 ppm	4/2	4/2	3/3	3/3	3/3	3
8.288 x 10⁻⁴	850 ppm	4/2	4/2	2/4	1/5	1/5	5
8.775 x 10⁻⁴	900 ppm	4/2	4/2	0/6	0/6	0/6	6
9.263 x 10⁻⁴	950 ppm	4/2	4/2	0/6	0/6	0/6	6
Metomyl 900	Metomyl (9 mg/10mL)	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	6

El total de larvas empleadas por tratamiento fueron 6, y se describen como VIVAS/MUERTAS

Extracto etanólico seco de *Lantana camara* “Lantana”

En la tabla 12,13 y 14, se muestran el número de larvas *Spodoptera frugiperda* muertas para cada dosis y concentración de extracto etanólico de *Lantana camara*. Como se puede observar a mayor dosis y concentración, mayor es número de muertes por hora.

Tabla 12. Mortalidad por hora de *Spodoptera frugiperda* estadio larval II (número de individuos muertos), de acuerdo con la dosis y concentración del extracto etanólico seco de *Lantana camara*. (Primera repetición)

Tratamientos (Primera repetición)		1	4	12	24	48	Total de muertes
Dosis (mg/kg)	Concentraciones (ppm)	hora	Horas	horas	horas	horas	
Control (Etanol 96%)		6/0	6/0	6/0	6/0	6/0	0
3.90 x 10⁻³	4 000 ppm	6/0	6/0	6/0	6/0	6/0	0
5.85 x 10⁻³	6 000 ppm	6/0	6/0	6/0	6/0	4/2	2
7.80 x 10⁻³	8 000 ppm	6/0	6/0	6/0	5/1	5/1	1
9.75 x 10⁻³	10 000 ppm	6/0	5/1	3/3	3/3	3/3	3
11.7 x 10⁻³	12 000 ppm	5/1	4/2	2/4	2/4	2/4	4
Metomyl 900	Metomyl (9 mg/10 mL)	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	6

El total de larvas empleadas por tratamiento fueron 6, y se describen como VIVAS/MUERTAS

Tabla 13. Mortalidad por hora de *Spodoptera frugiperda* estadio larval II (número de individuos muertos), de acuerdo con la dosis y concentración del extracto etanólico seco de *Lantana camara*. (Segunda repetición)

Tratamientos (Segunda repetición)		1	4	12	24	48	Total de muertes
Dosis (mg/kg)	Concentraciones (ppm)	hora	horas	horas	horas	horas	
Control (Etanol 96%)		6/0	6/0	6/0	6/0	6/0	0
3.90 x 10⁻³	4 000 ppm	6/0	6/0	6/0	6/0	6/0	0
5.85 x 10⁻³	6 000 ppm	6/0	6/0	6/0	6/0	5/1	1
7.80 x 10⁻³	8 000 ppm	6/0	6/0	6/0	5/1	4/2	2
9.75 x 10⁻³	10 000 ppm	6/0	5/1	3/3	3/3	3/3	3
11.7 x 10⁻³	12 000 ppm	5/1	4/2	2/4	2/4	2/4	4
Metomyl 900	Metomyl (9 mg/10 mL)	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	6

El total de larvas empleadas por tratamiento fueron 6, y se describen como VIVAS/MUERTAS

Tabla 14. Mortalidad por hora de *Spodoptera frugiperda* estadio larval II (número de individuos muertos), de acuerdo con la dosis y concentración del extracto etanólico seco de *Lantana camara*. (Tercera repetición)

Tratamientos (Tercera repetición)		1	4	12	24	48	Total de
Dosis (mg/kg)	Concentraciones (ppm)	hora	horas	horas	horas	horas	muerres
Control (Etanol 96%)		6/0	6/0	6/0	6/0	6/0	0
3.90 x 10⁻³	4 000 ppm	6/0	6/0	6/0	6/0	6/0	0
5.85 x 10⁻³	6 000 ppm	6/0	6/0	6/0	6/0	5/1	1
7.80 x 10⁻³	8 000 ppm	6/0	6/0	6/0	5/1	5/1	1
9.75 x 10⁻³	10 000 ppm	6/0	5/1	3/3	3/3	3/3	3
11.7 x 10⁻³	12 000 ppm	5/1	4/2	2/4	2/4	1/5	5
Metomyl 900	Metomyl (9 mg/10 mL)	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	6

El total de larvas empleadas por tratamiento fueron 6, y se describen como VIVAS/MUERTAS

Porcentaje de Mortalidad:

En las tablas 15 y 16 detallan el porcentaje de mortalidad del estadio larval II de *Spodoptera frugiperda* tras la aplicación del extracto etanólicos secos de *Tagetes Minuta* y *Lantana camara*.

Tabla 15. Porcentaje de mortalidad del estadio larval II de *Spodoptera frugiperda* tras la aplicación del extracto etanólico seco de *Tagetes Minuta*.

Porcentaje de mortalidad		1	4	12	24	48
Dosis (mg/kg)	Concentraciones (ppm)	Hora	horas	horas	horas	horas
Control (Etanol 96%)		0	0	0	0	0
6.825 x 10⁻⁴	700 ppm	0	0	16.7	33.3	33.3
7.800 x 10⁻⁴	800 ppm	33.3	33.3	50.0	50.0	50.0
8.288 x 10⁻⁴	850 ppm	33.3	33.3	66.7	77.8	83.3
8.775 x 10⁻⁴	900 ppm	33.3	33.3	94.4	100.0	100.0
9.263 x 10⁻⁴	950 ppm	33.3	38.8	100.0	100.0	100.0
Metomyl (900)	Metomyl (9 mg/10 mL)	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

El total de larvas empleadas por bioensayo fue = 18, que equivale al 100 %.

Tabla 16. Porcentaje de mortalidad del estadio larval 2 de *Spodoptera frugiperda* tras la aplicación del extracto etanólico seco de *Lantana camara*.

Porcentaje de mortalidad		1	4	12	24	48
Dosis (mg/kg)	Concentraciones (ppm)	Hora	horas	horas	horas	horas
Control (Etanol 96%)		0	0	0	0	0
3.90 x 10⁻³	4 000 ppm	0	0	0	0	0
5.85 x 10⁻³	6 000 ppm	0	0	0	0	16.7
7.80 x 10⁻³	8 000 ppm	0	0	0	16.7	22.2
9.75 x 10⁻³	10 000 ppm	0	11.1	50.0	50.0	50.0
11.7 x 10⁻³	12 000 ppm	16.7	33.3	66.7	66.7	83.3
Metomyl 900	Metomyl (9 mg/10 mL)	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

El total de larvas empleadas por bioensayo fue = 18, que equivale al 100 %.

4.5. Análisis estadístico.

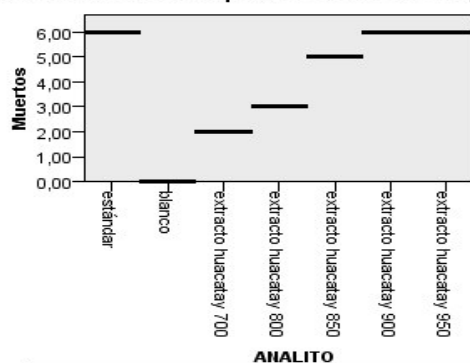
La tabla 17 muestra la hipótesis estadística de los resultados de mortalidad de *Spodoptera frugiperda* respecto al blanco etanol con el extracto etanólico seco de *Tagetes minuta* y el estándar Metomyl, a través de la prueba de Kruskal Wallis mediante el cual se demostró diferencia estadísticamente significativa entre muestras.

Tabla 17. Análisis de datos estadísticos por la prueba de Kruskal Wallis para el extracto etanólico seco de *Tagetes minuta*

Resumen de prueba de hipótesis			
	Hipótesis nula	Prueba	Sig.
1	La distribución de Muertes es la misma entre las categorías de Analitos	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,000
Rechazar la hipótesis nula.			
Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de ,05.			

Gráfico N° 1. Prueba de Kruskal – Wallis para muestras independientes de Wallis para el extracto etanólico seco de *Tagetes minuta*

Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes



ANALITO	
N total	18
Estadístico de contraste	34,694
Grados de libertad	11
Sig. asintótica (prueba bilateral)	,000

1. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.

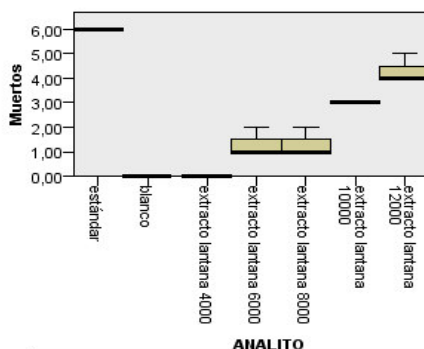
La tabla 18 muestra la hipótesis estadística de los resultados de mortalidad de *Spodoptera frugiperda* respecto al blanco etanol con el extracto etanólico seco de *Lantana camara* y el estándar Metomyl, a través de la prueba de Kruskal Wallis mediante el cual se demostró diferencia estadísticamente significativa entre muestras.

Tabla 18. Análisis de datos estadísticos por la prueba de Kruskal Wallis para el extracto etanólico seco de *Lantana camara*

Resumen de prueba de hipótesis			
Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
La distribución de muertos es la misma entre las categorías de ANALITO	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,000	Rechazar la hipótesis nula
Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de 0,05.			

Gráfico N° 2. Prueba de Kruskal – Wallis para muestras independientes de Wallis para el extracto etanólico seco de *Lantana camara*

Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes



ANALITO	
N total	18
Estadístico de contraste	34,694
Grados de libertad	11
Sig. asintótica (prueba bilateral)	,000

1. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.

4.6. Determinación de DL50 de extracto etanólico seco de *Tagetes minuta*

Extracto etanólico de *Tagetes minuta*: DL50 7.387×10^{-4} mg/kg

DL50 expresada en mg de sustancia de prueba (*) por peso de larva ⁽⁷⁴⁾.
(*) Peso de alimento ingerido expuesto a una concentración específica.

Tabla 19. Análisis de datos estadísticos de DL₅₀ del extracto etanólico seco de *Tagetes minuta* procesados en el modelo Probit del SPSS 22

Estimaciones de parámetro

		Error estándar	Z	Sig.	Intervalo de confianza de 95 %		
Parámetro	Estimación				Límite inferior	Límite superior	
PROBIT ^a	Dosis	20,769	4,088	5,080	,000	12,756	28,782
	Intersección	-18,037	3,647	-4,946	,000	-21,684	-14,390

a. Modelo PROBIT: PROBIT(p) = Intersección + BX (Las covariables X se transforman utilizando el logaritmo 10,000 base.)

Pruebas de chi-cuadrado

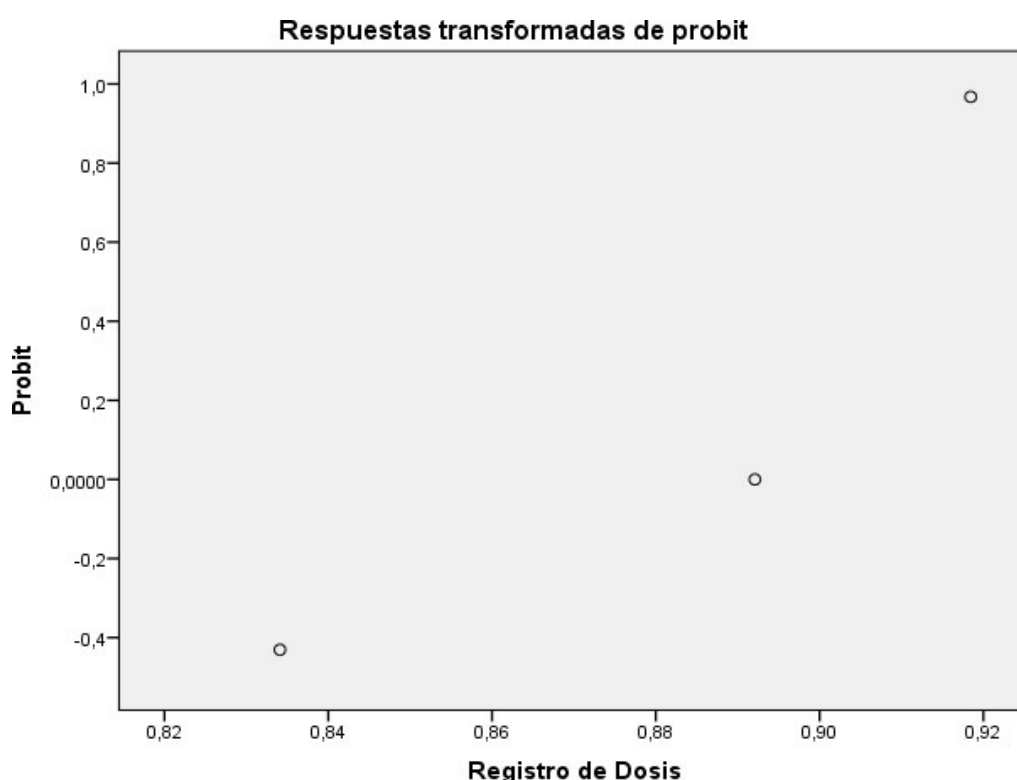
		Chi-cuadrado	gl ^b	Sig.
PROBIT	Prueba de bondad de ajuste de Pearson	5,451	3	,142 ^a

a. Puesto que el nivel de significación es mayor que ,050, no se utiliza el factor de heterogeneidad en el cálculo de los límites de confianza.

b. Las estadísticas basadas en casos individuales difieren de las estadísticas basadas en casos agregados.

Se obtiene un valor de p mayor a 0.05 por lo que el modelo presenta un buen ajuste

Gráfico N° 3. Análisis de datos estadísticos de DL₅₀ del extracto etanólico seco de *Tagetes minuta*



4.7. Determinación de DL₅₀ de extracto etanólico seco de *Lantana camara*

Extracto etanólico de *Lantana camara*: DL₅₀ 9.533 x 10⁻³ mg/kg

DL₅₀ expresada en mg de sustancia de prueba (*) por peso de larva ⁽⁷⁴⁾.

(*) Peso de alimento ingerido expuesto a una concentración específica

Tabla 20. Análisis de datos estadísticos de DL₅₀ del extracto etanólico seco de *Lantana camara* procesados en el modelo Probit del SPSS 22

Estimaciones de parámetro							
						Intervalo de confianza de 95 %	
	Parámetro	Estimación	Error estándar	Z	Sig.	Límite inferior	Límite superior
PROBIT ^a	Dosis	5,360	2,200	2,436	,015	1,048	9,672
	Intersección	-5,248	2,389	-2,197	,028	-7,638	-2,859

a. Modelo PROBIT: $\text{PROBIT}(p) = \text{Intersección} + BX$ (Las covariables X se transforman utilizando el logaritmo 10,000 base.)

Pruebas de chi-cuadrado

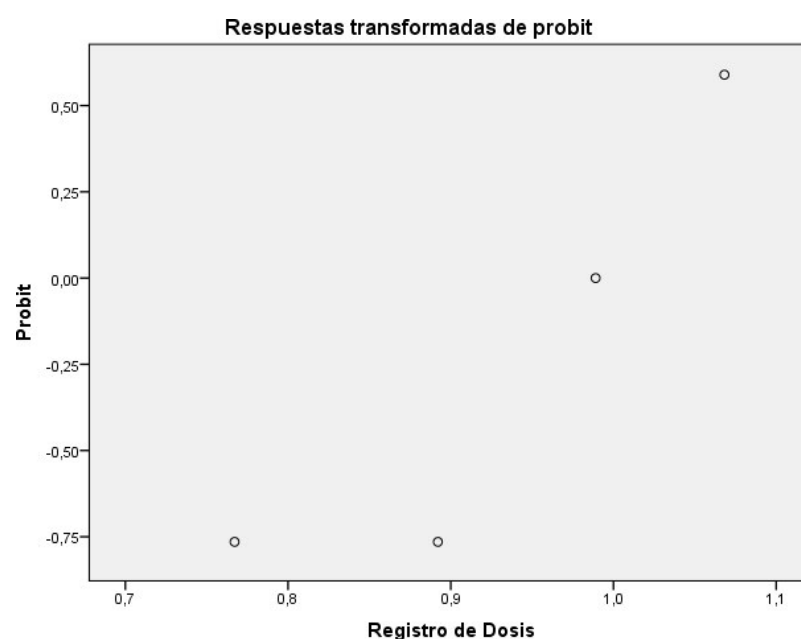
		Chi-cuadrado	gl ^b	Sig.
PROBIT	Prueba de bondad de ajuste de Pearson	2,734	2	,255 ^a

a. Puesto que el nivel de significación es mayor que ,050, no se utiliza el factor de heterogeneidad en el cálculo de los límites de confianza.

b. Las estadísticas basadas en casos individuales difieren de las estadísticas basadas en casos agregados.

Se obtiene un valor de p mayor a 0.05 por lo que el modelo presenta un buen ajuste.

Gráfico N° 4. Análisis de datos estadísticos de DL₅₀ del extracto etanólico seco de *Lantana camara*



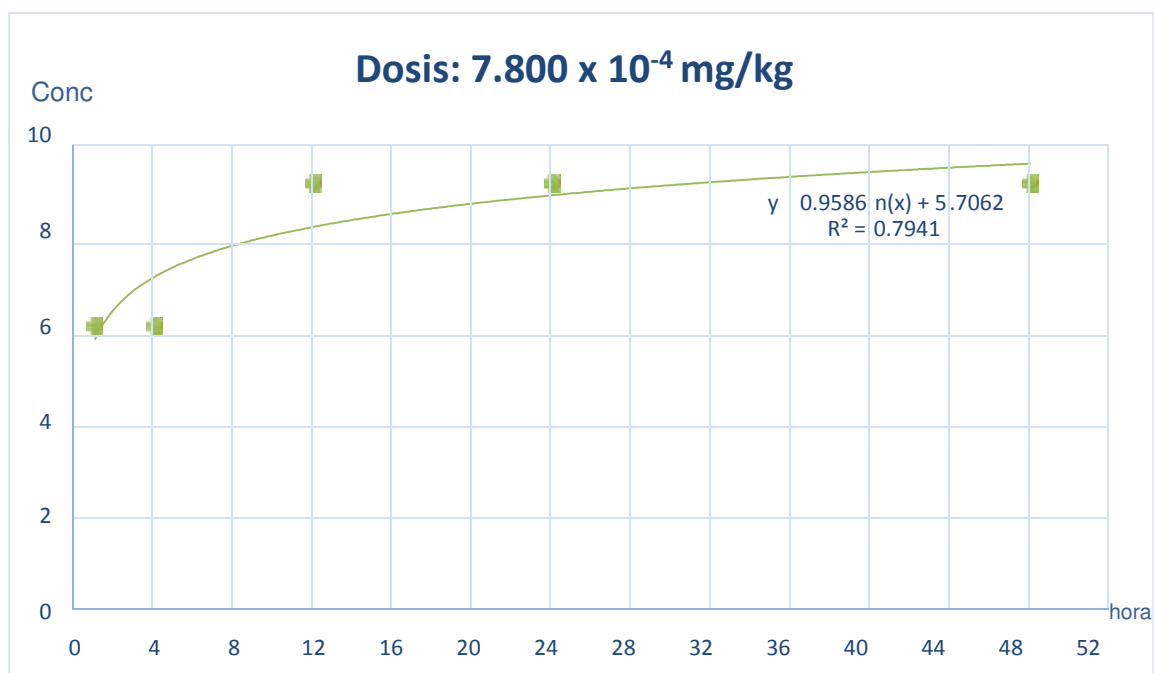
4.8. Determinación de TL50 de extracto etanólico seco de *Tagetes minuta*

Extracto etanólico de *Tagetes minuta*: TL50 31.06 h

Tabla 21. Análisis de datos estadísticos de TL50 del extracto etanólico seco de *Tagetes minuta*

Tiempo (h)	Muertes de <i>Spodoptera frugiperda</i> obtenidas en cada dosis (mg/kg)					TOTAL
	6.825 x 10 ⁻⁴	7.800 x 10 ⁻⁴	8.288 x 10 ⁻⁴	8.775 x 10 ⁻⁴	9.263 x 10 ⁻⁴	
1	0	6	6	6	6	18
4	0	6	6	6	7	18
12	3	9	12	17	18	18
24	6	9	14	18	18	18
48	6	9	15	18	18	18

Gráfico N° 5. Análisis de datos estadísticos de TL₅₀ del extracto etanólico seco de *Tagetes minuta*



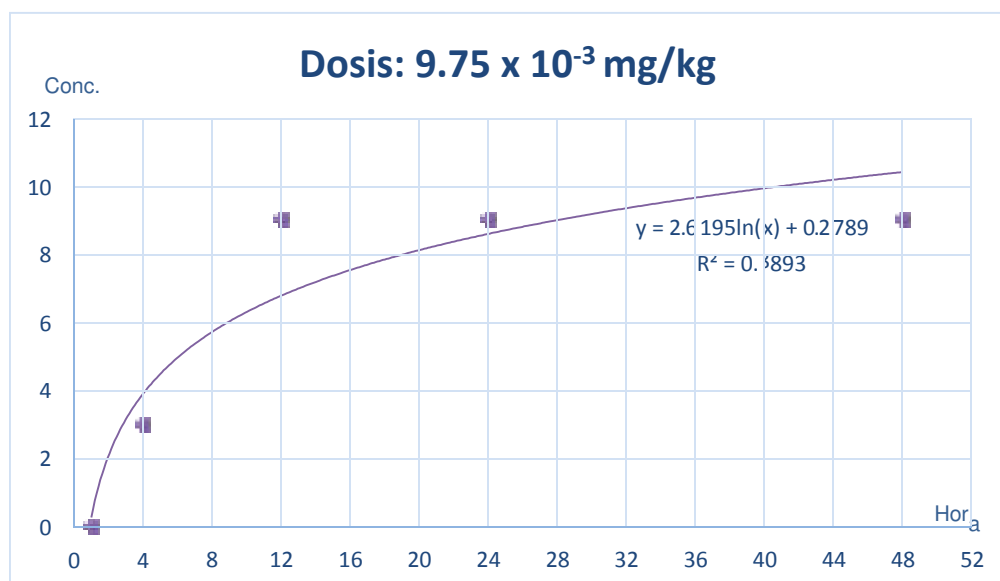
4.9. Determinación de TL50 de extracto etanólico seco de *Lantana camara*

Extracto etanólico de *Lantana camara*: **TL50 27.90 h**

Tabla 22. Análisis de datos estadísticos de TL50 del extracto etanólico seco de *Lantana camara*

Tiempo (h)	Muertes de <i>Spodoptera frugiperda</i> obtenidas en cada dosis (mg/kg)					TOTAL
	3.90 x 10 ⁻³	5.85 x 10 ⁻³	7.80 x 10 ⁻³	9.75 x 10 ⁻³	11.7 x 10 ⁻³	
1	0	0	0	0	3	18
4	0	0	0	3	6	18
12	0	0	0	9	12	18
24	0	1	3	9	12	18
48	0	2	4	9	13	18

Gráfico N° 6. Análisis de datos estadísticos de TL₅₀ del extracto etanólico seco de *Lantana camara*



V. DISCUSIONES

- El ensayo de Tamizaje fitoquímico (Tabla 8) mostró que ambos extractos etanólicos secos de *Tagetes minuta* y *Lantana camara*, presentan como metabolitos secundarios triterpenoides y esteroides, y ello se confirmó al momento de evaluar los resultados de la cromatografía de capa fina. Este resultado es coherente con lo revisado en la literatura; por ejemplo, Vázquez, en su estudio fitoquímico de *Tagetes minuta*, identificó 53 componentes para esta especie, entre los cuales listó sesquiterpenos, los cuales, menciona Brunenton en su libro, son muy frecuentes en la familia Asteráceas, y por su metabolismo intenso se consideran sustancias responsables de la toxicidad en animales; este mismo autor, para el caso de las verbenáceas (familia del género *Lantana*), refiere que son responsables de la toxicidad los triterpenos: lantadeno A y lantadeno B; sustancias que han sido identificadas por autores como Akash en su investigación sobre la actividad fitoquímica y farmacológica de *Lantana camara* ^(10, 75, 76). Otros autores como Soule y Murga, en sus estudios realizados, relacionan principalmente la presencia de estos metabolitos con la toxicidad de las plantas, generando un efecto antialimentario ^(15, 18). Se identificó también presencia de alcaloides y taninos para ambos extractos etanólicos.
- La marcha de solubilidad de los extractos etanólico de *Tagetes minuta* y *Lantana camara* (Tablas 6, 7), demostró que ambos son solubles en los solventes orgánicos como alcohol etílico 96 %, metanol, N- hexano y éter dietílico; e insolubles en agua. Se optó por usar etanol como solvente de extracción ya que presenta baja toxicidad y selectividad, además es el solvente más usado en los procesos de producción de pesticidas ⁽⁹⁾. En los tratamientos testigo no se observó mortalidad por el alcohol, por lo que no fue necesario corregir los valores de mortalidad de los tratamientos estudiados.
- Se hicieron tres repeticiones de cada extracto para los ensayos de DL50 y TL50 para asegurar el adecuado desarrollo del método y que este sea replicable, garantizando la confiabilidad de los resultados. En lo que

respecta a la muestra, lo que nos indica las guías de manejo de Gusano Cogollero es que el momento óptimo para controlar larvas de *Spodoptera frugiperda* es antes de que alcance los 15 mm (esto es tercer instar, L3), con base en ello es que para los ensayos de DL50 y TL50 se usó *Spodoptera frugiperda* de segundo instar (L2) ^(4,67).

- Con respecto a la mortalidad de larvas, esta fue determinada de acuerdo a los criterios de los protocolos de la OMS, los mismos que han sido utilizados por Santos y Trujillo en sus respectivas investigaciones, donde la muerte de larvas de estadio II (L2) de *Spodoptera frugiperda* fue evaluada mediante la observación de sintomatología como: la reducción de la motilidad de las larvas, el acortamiento de cuerpo y leves punciones con un pincel de cerdas suaves y pequeñas ^(7, 9, 73).
- Para el extracto etanólico seco de *Lantana camara* se observó en las tablas 12, 13 y 14 una DL50 de 9.75×10^{-3} mg/Kg, sin embargo, los resultados procesados con el programa estadístico SPSS 22 mostró una DL50 de 9.533×10^{-3} mg/Kg con una confiabilidad al 95 %. No se alcanzó la muerte de al menos la mitad de la muestra a las dosis de 3.90×10^{-3} mg/Kg, 5.85×10^{-3} mg/Kg ni a 7.80×10^{-3} mg/Kg durante las 48 horas de evaluación. Dong, en su estudio, refiere que *Lantana camara* posee efecto antialimentario sobre el género *Spodoptera* lo cual explicaría el uso de altas dosis para conseguir la muerte de al menos el 50 % de la población larval ⁽¹¹⁾. Los autores Iannaccone y Lamas usaron larvas de *Phthorimaea operculella* (insecto de la misma familia que *Spodoptera*), frecuentemente usada para evaluar efecto biocida, y encontraron que el extracto de *Lantana camara* tiene efecto en el control larvario de estas; el efecto tóxico del extracto etanólico de esta planta también ha sido visto en estudios realizados sobre especies de otras familias diferente a la de los lepidópteros (familia del género *Spodoptera*), se puede citar a Guevara y Rusmelicia quienes investigaron la toxicidad del extracto etanólico de *Lantana camara* sobre *Bemisia tabaci* L., cabe mencionarlo, ya que, a pesar de las diferencias entre familias, se ha encontrado algún efecto tóxico en los resultados de estas investigaciones para este extracto ^(13, 14, 77). De acuerdo a la literatura

encontrada, según la Clasificación Toxicológica para sólidos y líquidos (Tabla 4) una DL50 de 9.533×10^{-3} mg/kg resultaría muy tóxico para el estadio larval II de *Spodoptera frugiperda*.

- Al respecto del extracto etanólico seco de *Tagetes minuta* se observó en las tablas 9, 10 y 11 a una DL50 de 7.800×10^{-4} mg/kg, mientras que los resultados procesados con el programa estadístico SPSS 22 mostró una DL50 de 7.387×10^{-4} mg/kg con una confiabilidad al 95%. A la dosis de 6.825×10^{-4} mg/kg no se registró DL50 durante las 48 horas de evaluación. En otras especies se ha demostrado control larvicida y pupicida de esta planta, como explica Bobadilla en su evaluación del extracto de *Tagetes minuta* sobre *Aedes aegypti*, así también en el estudio de Salinas, que evaluó la actividad bioinsecticida de un género *Tagetes* sobre *Spodoptera frugiperda* ^(20, 23). De acuerdo a la Clasificación Toxicológica para sólidos y líquidos (Tabla 4) una DL50 de 7.387×10^{-4} mg/Kg pertenecería muy tóxico para el estadio larval II de *Spodoptera frugiperda*.
- El tiempo letal medio (TL50) de *Lantana camara* a una DL50 de 9.75×10^{-3} mg/kg se observó a las 12 horas (Tablas 12, 13, 14), de acuerdo a lo analizado estadísticamente con el programa estadístico SPSS 22, el TL50 sería a las 27,90 horas (Tabla 22). Resalta la diferencia de ambos datos (entre lo observado y la estadística) lo que haría pensar que el tamaño de muestra no es la apropiada según el modelo. Cabe mencionar que se observó que a través del tiempo existió una eficiencia progresiva de los tratamientos en el control de las larvas. En otros estudios como el del autor Oluah luego de evaluar la actividad larvicida de extracto etanólico de hojas de esta planta halló una TL50 de 6.8 horas ⁽⁸⁰⁾. En relación al tiempo letal medio (TL50) de *Tagetes minuta* a una DL50 de 7.800×10^{-4} mg/kg se observó a las 12 horas (Tablas 9, 10, 11), de acuerdo a lo analizado estadísticamente con el programa estadístico SPSS 22, el TL50 sería a las 31,06 horas (Tabla 21). Al igual que *Lantana camara* es evidente la diferencia de ambos datos (entre lo observado y la estadística). En una investigación sobre la actividad

insecticida de aceite esencial de *Tagetes minuta* sobre *Pediculus humanus capitis*, realizada por Gakuubi, se obtuvo una TL50 de 16.4 horas con un margen de error de ± 1.62 minutos luego de analizar los datos en un modelo de regresión lineal ⁽⁷⁸⁾. Giarratana, como parte de su estudio, expuso aceites esenciales al 5 % de *Tagetes minuta* de sobre larvas *Anisakis* llegando a obtener una TL50 de 8.6 horas ⁽⁷⁹⁾. No se encontró literatura que haya estudiado TL50 de extractos de *Tagetes minuta* sobre alguna especie del género *Lepidoptera*.

- El total de larvas usadas fue de 18 por cada uno de los ensayos que equivale al 100% respectivamente. El ensayo de extracto etanólico seco de *Tagetes minuta* mostró durante las primeras 4 horas de aplicación una mortalidad no mayor al 38.8% para todas las dosis. Es a partir de las 12 horas que se obtuvo al menos un TL50 correspondiente a la dosis de 7.800×10^{-4} mg/kg sin presentar una diferencia significativa en la mortalidad presentada hasta las 48 horas. Para las dosis de 8.288×10^{-4} mg/kg, 8.775×10^{-4} mg/kg y 9.263×10^{-4} mg/kg se observó una progresión en el porcentaje de mortalidad que va desde los 66.7 %, a las 12 horas, hasta el 100 % a las 48 horas (Tabla 15), Salinas evaluó el efecto tóxico de un extracto vegetal de *Tagetes erecta* sobre pupas de *Spodoptera frugiperda*, resultando una mortalidad de hasta el 80 % ⁽²³⁾, podría decirse que el efecto alcanzado puede variar según la especie de *Tagetes* empleada y del estadio larval de *Spodoptera frugiperda* a la cual se aplican los extractos.
- Respecto al extracto etanólico de *Lantana camara* en la exposición de las larvas a la dosis de 3.90×10^{-3} mg/kg no se observó ninguna muerte durante las 48 horas de aplicación. En las dosis de 5.85×10^{-3} y 7.80×10^{-3} mg/kg se observó una mortalidad de 16.7 % a las 48 y 24 horas respectivamente, para la dosis de 9.75×10^{-3} mg/kg se observó un TL50 a las 12 horas y no se visualizó una diferencia significativa hasta las 48 horas respecto al porcentaje de mortalidad. Para la dosis de 11.70×10^{-3} mg/kg se alcanzó una mortalidad de 83.3 % a las 48 horas (Tabla 16). Guevara, determinó una mortalidad de 61.9 % de un extracto de

Lantana camara sobre mosca blanca (*Bemisia tabaci* L.), de lo cual se infiere que la mortalidad varía acorde a la especie. (13)

- La prueba de Kruskal-Wallis es un método no paramétrico para probar si al menos un grupo de datos es distinto. Esta prueba nos permite contrastar nuestra hipótesis estadística, rechazando la hipótesis nula, ya que nos mostró un p menor a 0.05, lo cual indica que existen evidencias suficientes para plantear que la tasa de mortalidad a distintas dosis del extracto etanólico seco de *Tagetes minuta* y *Lantana camara*, difiere significativamente entre los grupos, con un nivel de significación del 5.00%.

VI. CONCLUSIONES

- El tamizaje fitoquímico del extracto etanólico seco *Tagetes minuta* muestra la presencia de los metabolitos secundarios como triterpenoides y esteroides los cuales serían los causantes del efecto tóxico.
- El tamizaje fitoquímico del extracto etanólico seco *Lantana camara* muestra la presencia de los metabolitos secundarios como triterpenoides y esteroides los cuales serían los causantes del efecto tóxico.
- La DL50 estimada del extracto etanólico seco de *Lantana camara* realizado en condiciones de laboratorio sobre *Spodoptera frugiperda* estadio larval II fue a una dosis de 9.533×10^{-3} mg/kg.
- La DL50 estimada del extracto etanólico seco de *Tagetes minuta* realizado en condiciones de laboratorio sobre *Spodoptera frugiperda* estadio larval II fue a una dosis de 7.387×10^{-4} mg/kg.
- El TL50 del extracto etanólico seco de *Lantana camara* realizado en condiciones de laboratorio sobre *Spodoptera frugiperda* estadio larval II fue a las 12 horas, considerando una DL50 de 9.75×10^{-3} mg/kg.
- El TL50 del extracto etanólico seco de *Tagetes minuta* realizado en condiciones de laboratorio sobre *Spodoptera frugiperda* estadio larval II fue a las 12 horas, considerando una DL50 de 7.800×10^{-4} mg/kg.
- Tras haberse aplicado el extracto etanólico seco de *Lantana camara* sobre las larvas de *Spodoptera frugiperda* estadio larval II, a una DL50 de 9.75×10^{-3} mg/kg, se obtuvo un porcentaje de mortalidad de 11.1% a las 4 horas y a las 12 horas se obtuvo el 50% de mortalidad, el cual se mantuvo hasta las 48 horas.

- Tras haberse aplicado el extracto etanólico seco de *Tagetes minuta* sobre *Spodoptera frugiperda* (L2), a una DL50 de 7.800×10^{-4} mg/kg, se obtuvo un porcentaje de mortalidad de 33.3% a las 1 y 4 horas, finalmente, a las 12 horas se obtuvo el 50% de mortalidad. No se verificó variación del porcentaje de mortalidad a las 24 y 48 horas de haber transcurrido el bioensayo realizado.

VII. RECOMENDACIONES

- Replicar el bioensayo de aplicación en campo.
- Estudiar el uso de otros extractos vegetales con probable efecto tóxico sobre plagas importantes en el Perú.
- Investigar sobre la variación de las condiciones climáticas (Temperatura y humedad) durante la crianza de *Spodoptera frugiperda*.
- Estudiar la DL50 y el TL50 de *Lantana camara* y *Tagetes minuta* en plagas, diferentes a *Spodoptera frugiperda*, que afectan a cultivos de exportación peruana.
- Determinar la DL50 y TL50 de otras partes de la planta de *Tagetes minuta* y *Lantana camara*.
- Exponer un peso determinado de alimento para larvas a las concentraciones y asegurar que dicha cantidad sea totalmente ingerida.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Devine G, Eza D, Oigusuku E, Furlong M. Uso de Insecticidas: Contexto y Consecuencias Ecológicas. Rev. Perú Med Exp Salud Pública. [Revista en Internet] 2008 [Accesado el 25 Jul 2018]; 25(1): 74-100. Disponible en:
<http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v25n1/a11v25n1.pdf>
2. Ventura M. “Control de Spodoptera frugiperda en *Asparagus officinalis* L.ev.UC 157 F1 aplicando Bacillus thuringiensis var. kurstaki e insecticidas en Huancaquito Alto, La Libertad” [Tesis]. La Libertad: Universidad Nacional de Trujillo. Facultad de ciencias agropecuarias; 2015. Disponible en:
<http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/4161/VENTURA%20GUANILLO%20MARCO%20ANTONIO.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
3. Casmuz, Augusto et al. Revisión de los hospederos del gusano cogollero del maíz, Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae) Rev. Sociedad entomológica Argentina. 2010, Jul. 69 (3, 4): pp. 209-231.
4. Pioneer-Du Pont. Manejo de Gusano Cogollero en cultivos de Maíz. Boletín. (Internet). 2014, set. Disponible en:
https://www.pioneer.com/CMRoot/international/Argentina_Intl/AGRONOMIA/MANEJO_DE_GUSANO_COGOLLERO_EN_MAIZ.pdf
5. Chango L. “Control de Gusano Cogollero (Spodoptera frugiperda) en el Cultivo en Maíz (Zea mays L.)”. [Trabajo de investigación estructurado de manera independiente como requisito para optar el título de ingeniera agrónoma. Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ingeniería Agronómica. Ecuador. 2012
6. Gahukar R. Integrated pest management current concepts and ecological perspective. Cap. 8 – Potential and utilization of plant products in pest control. 2014. pp.125–139.

7. Santos D., Andrade G., Ferreira D., Ribeiro R., Alvarenga M., Aparecida G. et al. Toxicity of copaiba extracts to armyworm (*Spodoptera frugiperda*). African Journal of Biotechnology 2012, mar. 11(24): pp. 6578-6591
8. Coveña S. Respuesta del maíz (*Zea mays*) al bioinsecticida de cedro rojo (*Cedrela odorata*) en cebo y aspersión para controlar al cogollero (*Spodoptera frugiperda*). [Tesis de grado previa a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo. Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias Agrarias.] Ecuador. 2015.
9. Trujillo P., Zapata L. Determinación de DL50 y TL50 de extractos etanólicos de suspensiones celulares de *Azadirachta indica* sobre *Spodoptera frugiperda*. Revista de la Facultad Nacional de Agronomía. Vol 61. Num2. 2008, set. pp. 4564-4575
10. Brunenton J. Plantas Tóxicas. Vegetales peligrosos para el hombre y los animales. Editorial Acribia: pp. 485-487.
11. Dong Y, Zhang M, Ling B. Antifeeding effects of crude lantadene from *Lantana camara* on *Plutella xylostella* and *Spodoptera litura* larvae. The journal of applied ecology. 2005,dic.16(12): pp.2361-2364
12. Yallappa Rajashekar et al. Isolation and characterization of biofumigant from leaves of *Lantana camara* for control of stored grain insect pests. Industrial Crops and Products.2013, Nov. 51: pp.224–228.
13. Guevara L., Cervantes F., Rodríguez D., Robles R., Mondragón W., Pérez D. Efecto bioinsecticida de extracto etanólico de Higuierilla (*Ricinus Cumunis* L.) y Lantana (*Lantana Camara* L.) sobre mosca blanca (*Bemisia tabaci*) en tomate. Revista de ciencias naturales y agropecuarias. 2015, jun. 2(3): pp. 428-434

14. Romero R., Morales P., Pino O., Cerneli M. y González E., Actividad insecticida de seis extractos etanólicos de plantas sobre mosca blanca. *Revista Protección Vegetal*. 2015, dic. 30(1): pp. 11-16
15. Soule, J.A. *Tagetes minuta*: A potential new herb from South America, new crops. Wiley, New York. (Internet) 1997, Set. (Citado el 05 de febrero de 2017), pp. 649-654. Disponible en: <https://hort.purdue.edu/newcrop/proceedings1993/V2-649.html>
16. Sadia S., Khalid Sh., Qureshi R. y Bajwa A. *Tagetes minuta* L. A useful underutilized plant of family Asteraceae: A review. *Pak J. Weed Sci* (Internet) 2013; 19(2), p. 179-189, 2013 Disponible en: <http://www.wssp.org.pk/downloadCount/eea073df12ff3b5a5cd356a5d9182476>.
17. Bazán Sandoval Yovher, Benites Melquiades Javier. Características farmacognósticas de las hojas y cuantificación de flavonoides totales del extracto fluido de *Tagetes minuta* L., (Huacatay) provenientes del caserío pedregal, provincia Trujillo, región La Libertad. [Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico], Trujillo, Facultad de Farmacia y Bioquímica – Universidad de Trujillo. 2014
18. Murga S., Alvarado J. y Vera N. (Rodríguez & Marbry 1977, Soule 1993, Liza et al. 2009). Efecto del follaje de *Tagetes minuta* sobre la nodulación radicular de *Meloidogyne incognita* en *Capsicum annuum*, en invernadero. *Rev. Perú. vol. Facultad de Ciencias Biológicas UNMSM* ISSN 1561-0837. 2012, Dic. ,19(3): pp. 257 – 260
19. Preedy VR. Aceites esenciales en la conservación de alimentos, sabor y seguridad. Edición: Primera Edición, Capítulo: *Tagetes (Tagetes minuta)* Aceites, Editorial: Academic Press. Granada: España; 2016.
20. Bobadilla M. Evaluación de recursos vegetales biocidas en el control de estadios inmaduros de *Aedes aegypti* L. Trujillo, La Libertad, Perú, 2006-

2007. [Tesis para optar el Grado de Doctor en Ciencias Ambientales]
Trujillo Perú 2007

21. Braga P., Schiedeck G., Rogério C. Extratos aquosos de *Tagetes minuta* (Asteraceae) como alternativa ao manejo agro-ecológico de afídeos em hortaliças. *Interciencia* 2013, Sep. 38 (9): pp. 676-680
22. Belles Xavier. Insecticidas Biorracionales. N°9. Consejo Superior de investigaciones científicas. Madrid: Colecciones Nuevas; 1998. Disponible en:
<https://books.google.com.pe/books?id=43lZwoQJzugC&pg=PA75&lpg=PA75&dq=efecto+insecticida+de+tagetes+minuta&source=bl&ots=8s0sNLB92F&sig=sAOGbsp4LCJTZ5Cywai0q2wHAo&hl=es&sa=X&ved=0ahUK EwiYofCxn-DRAhUKRSYKHVTSAGwQ6AEITDAG#v=onepage&q=efecto%20insecticida%20de%20tagetes%20minuta&f=false>
23. Salinas D., Aldana L., Valdés E., Gutiérrez M., Valladares G. y Rodríguez E. Insecticidal activity of *Tagetes erecta* extracts on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Florida Entomologist* 2010, Jun. 95(2): pp. 428 – 432
24. Ting G, Hui Y, Jingyuan S, Yingjie Z, Chang L, Shilin Ch. Evaluating the feasibility of using candidate DNA barcodes in discriminating species of the large Asteraceae family. *BMC Evol Biol.* 2010; (10):324.
<https://bmcevolbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2148-10-324>
25. Brunenton J. Plantas Tóxicas. Vegetales peligrosos para el hombre y los animales. Editorial Acribia: pp. 485-487.
26. Tapia J. La familia Asteraceae. Yucatán Herbario CICY Centro de Investigación Científica de Yucatán [Revista en internet]. 2010 [citado el 16 de julio de 2018]; 2: 82-84. Disponible en:

<http://www.cicy.mx/Documentos/CICY/Sitios/Biodiversidad/pdfs/Cap4/18%20Asteraceas.pdf>

27. Barrera L, Hung B, Botta A, Hernandez E, Gonzáles M, Aguilar B. Caracterización Física y Tamizaje Fitoquímico de la Especie *Tagetes erecta* Lin. Revista Cubana de Química. 2009; 21 (2), 10-15. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/4435/443543717002.pdf>
28. Serrato M. Investigación documental sobre el taxa *Tagetes* para dimensionar su origen y diversidad genética en México. Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo [Revista en internet]. [citado el 17 de julio de 2018]; [5]. Disponible en: <https://www.biodiversidad.gob.mx/genes/centrosOrigen/Tagetes/Proyecto/Proyecto%20Tagetes.pdf>
29. Rojas S. Análisis de Caracteres y Descripción Floral de los Gèneros más Representativos de la Subclase Asteridae (Magnoliopsida) Presentes en Colombia [Tesis]. Colombia: Pontificia Universidad Javeriana Facultad de Ciencias. Departamento de Biología; 2010. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8483/tesis445.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
30. Barajas J. Propiedades Plaguicidas de Cinco Especies del Género *Tagetes* [Tesis]. Yautepec, Morelos: Instituto Politécnico Nacional. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, 2009. Disponible en: <https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/7705/PROPLAGUICIDAS.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
31. Rincón G, Quiñones E, Qui J, Serrato M. Efectividad Biológica de Extractos de *Tagetes* spp sobre Bacterias Fitopatógenas. SNICS-SINAREFI, CIATEJ. 2012 [Epub ahead of print]. Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/225097/Folleto_tagetes_vs_bacterias_fitopatogenas_VF.pdf

32. Ulloa C. Aromas y Sabores Andinos. Moraes M, Ollgaard B, Kvist L, Borchsenius, Balslev H, editores. La Paz: Botánica Económica de los Andes Centrales. Universidad Mayor de San Andrés; 2006. Disponible en:<http://www.missouribotanicalgarden.org/Portals/0/staff/PDFs/ulloa/Aromas.pdf>
33. Cussa L. Toxicidad del Aceite Esencial de *Tagetes minuta* L. (Asteraceae) Obtenido de Poblaciones Silvestres y Cultivadas. Córdoba: Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas Y Naturales. Carrera De Ciencias Biológicas; 2017. Disponible en:<https://rdu.unc.edu.ar/bitstream/handle/11086/5559/tesina%20Cussa%20Lucia.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
34. Iannacone J, Alvarino L, Guabloche A, Ventura K, La Torre M, Carhuapoma M et al. Efecto Tóxico Agudo y Crónico de *Tagetes Minuta* “Huacatay” (Asteraceae) y Carbaril Sobre Seis Entomófagos de Importancia en Control Biológico. The Biologist [Serie en internet]. 2017 Ene-Jun [Accesado 27 de Julio de 2018]; 15(1): 85-97 Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/318292380_EFECTO_TOXICO_AGUDO_Y_CRONICO_DE_TAGETES_MINUTA_HUACATAY_ ASTERACEAE_Y_CARBARIL_SOBRE_SEIS_ENTOMOFAGOS_DE_IMPORTANCIA_EN_CONTROL_BIOLOGICO
35. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Blog de Malezas de México [Internet]. México. 2012 [Accesado el 24 de julio de 2018]. Disponible en: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/tagetes-minuta/fichas/ficha.htm>
36. International Seed Testing Association [Página principal en Internet]. Canadá: Putz S; c2014 [Actualizado Ene 2014; accesado 23 jul 2018]. [aprox. 3 pantallas]. Disponible en: https://www.seedtest.org/upload/cms/user/Tagetesminuta-ISTA-UL-Canada_Task.pdf

37. Chamorroa E, Ballerinib G, Sequeiraa A, Velascoa G, Zalazara M. Chemical Composition of Essential Oil from *Tagetes Minuta* L. Leaves and Flowers. J. Argent. Chem. Soc [Serie en internet]. 2008 Ene/Dic [Accesado el 24 Jul 2018]; 96 (1-2): 80-86. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1852-14282008000100008
38. Ministerio de Salud y ANVISA. Monografia da Espécie *Tagetes Minuta* L. (Cravo-de-defunto) [monografía en Internet]. Brasilia: 2015 [Accesado el 23 Jul 2018]. Disponible en: <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2017/setembro/11/Monografia-Tagetes-minuta.pdf>
39. Mohsen T, Hamid G, Gholamreza K, Vahid R, Asad T. Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of *Tagetes minuta* and *Ocimum basilicum* essential oils. Food Science & Nutrition. [Revista en Internet] 2014 [Accesado el 24 Jul 2018]; 2(2): 146–155. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/fsn3.85>
40. Nasser A, Farukh S, Ali G, Hillb G, Arnold N, Al-Sokaria S, et al. Composition of Essential Oil from *Tagetes minuta* and its Cytotoxic, Antioxidant and Antimicrobial Activities. Natural Product Communications. [Revista en Internet] 2014 [Accesado el 24 Jul 2018]; 9 (0): 1-4. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/265208034_Composition_of_Essential_Oil_from_Tagetes_minuta_and_its_Cytotoxic_Antioxidant_and_Antimicrobial_Activities
41. R. Silva. *Jardinería básica N^a1* [Internet]. Santiago de Chile, Chile: Andres Bello; 1985 [Consultado 10 de febrero de 2018]. Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=ou_7QvudpG0C&pg=PA178&dq=LANTANA+familia&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwj074m5msLZAhWMmlkKHQS3DzEQ6AEIKzAB#v=onepage&q=LANTANA%20familia&f=false

42. G. Lòpez. *Los árboles y arbustos de la Península Ibèrica e Islas Baleares: especies silvestres y principales cultivadas*. Tomo I. Vol. 2. 2da Ediciòn. Madrid: Mundi-Prensa, 2006. [Consultado 10 de febrero de 2018].
Disponble en: <https://books.google.com.pe/books?id=ubjSw8--s8EC&pg=PA1353&dq=genero+lantana+camara&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwj7nb6agLLcAhXRt1kKHZSmCrgQ6AEIJzAA#v=onepage&q=genero%20lantana%20camara&f=false>
43. Cadenas W. EVALUACIÓN DE ETEFÓN SOBRE EL RENDIMIENTO DE ESQUEJES DE EXPORTACIÓN EN VARIEDADES ORNAMENTALES DE LANTANA (*Lantana camara*); VILLA CANALES, GUATEMALA [Tesis]. Guatemala: UNIVERSIDAD RAFAEL LANDÍVAR. FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES Y AGRÍCOLAS. LICENCIATURA EN CIENCIAS AGRÍCOLAS CON ÉNFASIS EN RIEGOS; 2015. [Consultado 3 febrero de 2018]. Disponible en: <http://recursosbiblio.url.edu.gt/tesiseortiz/2015/06/03/Cadenas-Walter.pdf>
44. Fundaciòn Hogares Campesinos Juveniles. *El milagro de las plantas; aplicaciones medicinales y orofarìngeas: manual. Volumen 4 de Colección Cuidando la creaciòn*. [Internet] Bogotá, Colombia: San Pablo.; 2005. [Consultado 3 febrero de 2018]. Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=ss3tcgKqh_UC&pg=PT113&dq=la+ntana+camara+otros+nombres&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwib95LlnbTcAhUNr1kKHQbsCmlQ6AEIODAD#v=onepage&q=lantana%20camara%20otros%20nombres&f=false
45. Magaña M. *Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas de Tabasco. Colección Jose N. Rovirosa: Biodiversidad, desarrollo sustentable y trópico húmedo*. 2da Ediciòn [Internet] México: Universidad Autónoma de Tabasco, 2006 [Consultado 3 febrero 2018]. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=TmDlb21rDrsC&pg=PA151&dq=la+ntana+camara+otros+nombres&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwib95LlnbTcA>

hUNr1kKHQbsCmlQ6AEILDAB#v=onepage&q=lantana%20camara%20ot
ros%20nombres&f=false

46. Food and Agriculture Organization of the United Nations, R. Labrada, J. C. Caseley, C. Parker. Manejo de malezas para países en desarrollo. Volumen 120 de Estudio FAO.: Producción y protección vegetal. [Internet] Roma, Italia: Food & Agriculture Org.; 1996[citado el 12 de febrero de 2018]. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=i7inikglZZEC&pg=PA115&dq=Lantana+c%C3%A1mara,+conocida+como+lantana,+es+un+arbusto+muy+ramificado,+que+se+presenta+de+variadas+formas&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjymJmz7rHcAhUGqlkKHYoEA5IQ6AEIJzAA#v=onepage&q=Lantana%20c%C3%A1mara%20conocida%20como%20lantana%20es%20un%20arbusto%20muy%20ramificado%20que%20se%20presenta%20de%20variadas%20formas&f=false>
47. Agapito T., Sung I. Fitomedicina: 1100 plantas medicinales. Lima, Perú: Ed. Isabel; 1998
48. Ghisalberti E. Review: *Lantana camara* L. (Verbenaceae). Fitoterapia. 2000. N° 71 Pag: 467-486
49. Inga L. Identificación de los componentes del aceite esencial de *Lantana camara* L. Formulación y elaboración de una forma farmacéutica repelente de insectos. [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Escuela Farmacia y Bioquímica; 2015.
50. Díaz J. *Plantas tóxicas de importancia en salud y producción animal en Colombia* [Internet] Bogotá, Colombia: Universidad Nacional de Colombia; 2010. [citado el 12 de febrero de 2018]. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=qxMLIQHNhxMC&pg=PA203&dq=toxicidad+de+la+lantana+camara&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwi90fPel->

DZAhXSuFMKHTYuCbQQ6AEIPDAE#v=onepage&q=toxicidad%20de%20la%20lantana%20camara&f=false.

51. Blair S., Madrigal B. *Plantas antimalaricas de Tumaco: costa pacífica colombiana*. [Internet] Medellín, Colombia: Universidad de Antioquia; 2005 [citado el 12 de febrero de 2018]. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=8a7CKa3yXr0C&pg=PA276&dq=toxicidad+de+la+lantana+camara&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwi90fPel-DZAhXSuFMKHTYuCbQQ6AEIJTAA#v=onepage&q=toxicidad%20de%20la%20lantana%20camara&f=false>
52. Virgili G. Guía medicinal y espiritual de plantas tropicales: Los secretos de las plantas desde el Caribe y la Amazonía hasta el Mediterráneo. [Internet]. Samaná, República Dominicana: Angels Fortune Editions; 2017 [citado el 12 de febrero de 2018]. Disponible en <https://books.google.com.pe/books?id=RLNCDwAAQBAJ&pg=PA264&dq=toxicidad+de+la+lantana+camara&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwi90fPel-DZAhXSuFMKHTYuCbQQ6AEIKzAB#v=onepage&q=toxicidad%20de%20la%20lantana%20camara&f=false>
53. Mamani J. Preparados de plantas biocidas en el manejo de “Gusano Cogollero” (*Spodoptera frugiperda* J.E. Smith) en cultivo de maíz (*Zea mays* L.) cv. “Confite”. Arequipa, 2013 [Tesis]. Arequipa: Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa. Facultad de Agronomía; 2015. Disponible en: <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/400/M21607.pdf?sequence=1>
54. Pioneer. - Boletín. Dupont [Revista en Internet] [Accesado 29 Julio 2018] Disponible en: https://www.pioneer.com/CMRoot/international/Argentina_Intl/AGRONOMIA/MANEJO_DE_GUSANO_COGOLLERO_EN_MAIZ.pdf

55. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Identificación de Estadios Larvales de Lepidópteros Paga de Maíz [Revista en Internet]. 2016 [Accesado el 30 Julio 2018]. Disponible en: http://ciat-library.ciat.cgiar.org/Articulos_Ciat/biblioteca/CIAT_IDENTIFICACION_DE_ESTADIOS_LARVALES_DE_LEPIDOPTEROS_PLAGA_MAIZ.pdf
56. Orihuela P. Trampas de luz para el control del cogollero en maíz - Hojas Volantes para Agricultores [Revista en Internet]. 2016 [Accesado 30 Julio 2018]. Disponible en: <http://www.agrolalibertad.gob.pe/sites/default/files/Control%20qu%C3%ADmico%20controlador%20de%20ma%C3%ADz.pdf>
57. García G. "Manejo Integrado de plagas y enfermedades en el cultivo de maíz amiláceo blanco" - Guía Técnica [Revista en Internet]. Agrobanco, 2013 [Accesado 30 Julio 2018]. Disponible en: <https://www.agrobanco.com.pe/data/uploads/ctecnica/022-d-mab.pdf>
58. Casanova P. Insecticidas Granulados en el Control del "Gusano Cogollero del Maíz", *Spodoptera frugiperda* Smith Rev. Per. 1966; 9(1): 177-178.
59. Cayetano X., Filamir W., Jazmín E., Mendoza M., Mejia N., Lopez J., Moran N. Insecticidas biológicos para el control de *Spodoptera frugiperda* Smith, su incidencia en el rendimiento. Ctro. Agr. 2017; 44 (3): 20-27.
60. Intagri. El Momento Oportuno para el Control del Gusano Cogollero. [Página principal en Internet] México. 2017 [Accesado el 12 de febrero de 2018]. Disponible en: <https://www.intagri.com/articulos/fitosanidad/el-momento-oportuno-para-el-control-del-gusano-cogollero>
61. Marcus D. Pesticidas Organofosforados y carbamatos: Toxicología y precauciones. [Internet] 1988 [consultado el 08 de febrero de 2018],

49(1): 42-45 Disponible en: <http://studylib.es/doc/6144147/pesticidas-%C3%B3rganofosforados-y-carbamatos--toxicolog%C3%ADa-y>

62. Observatorio Latinoamericano de conflictos ambientales. Lista provisoria de plaguicidas registrados en Chile que están prohibidos o severamente restringidos por gobiernos y sus efectos sanitarios y ambientales [Página principal en Internet] Chile. [Accesado el 08 de febrero de 2018]. Disponible en: <http://www.olca.cl/oca/plaguicidas/plag03.htm>
63. Red de Acción en Plaguicidas en América Latina. Agrotóxicos: Alertan por presencia de Plaguicidas Tóxicos en frutas y verduras [Internet] Uruguay, 2008. [Accesado el 11 de febrero de 2018]. Disponible en: http://biblioguias.uam.es/citar/estilo_vancouver
64. CCT CONICET Mendoza. Ensayos de toxicidad [Página principal en Internet] Argentina. 2011 [Accesado el 14 de febrero de 2018]. Disponible en: <https://www.mendozaconicet.gob.ar/portal/enciclopedia/terminos/Ensayosde.htm>
65. Fundación Hogares Juveniles Campesinos. Manual abecedario ecológico: la más completa guía de términos ambientales. Nro. 6 de Colección Cuidando la creación. Volumen 6 de Cuidando la creación [Internet] Bogotá, Colombia: Editorial San Pablo; 2006 [Consultado 12 de febrero de 2018]. Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=rrGMx_DpbfAC&pg=PT110&lpg=PT110&dq=DOSIS+LETAL&source=bl&ots=Ty4Zqtc7wl&sig=njKVjwPmFoj6N9-yu7fGFYGB89c&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwi6o9bh97zZAhUPXIMKHRMXCVE4FBD0AQglMAA#v=onepage&q=DOSIS%20LETAL&f=false
66. Mencias E. *Manual de toxicología básica* [Internet] Madrid, España: Ediciones Díaz de Santos; 2000 [Consultado 10 de febrero de 2018]. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=tGifQZogzZ0C&pg=PA27&dq=TIE>

MPO+LETAL&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjQr9ug2bbcAhVypVkKHaoUD
2wQ6AEIMTAC#v=onepage&q=TIEMPO%20LETAL&f=false

67. Chapter IV. Guidelines for Toxicity Tests. IV C 2. Acute Oral Toxicity Tests [Internet] [Consultado 15 de Noviembre de 2017]. Disponible en: <https://www.fda.gov/downloads/food/guidanceregulation/guidancedocumentsregulatoryinformation/ingredientsadditivesgraspackaging/ucm078734.pdf>
68. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Organización Panamericana de Salud. Diagnóstico, tratamiento y prevención de intoxicaciones agudas causadas por Plaguicidas. Curso a distancia a Médicos y Enfermeras. Unidad 2. [Internet] [Consultado 26 de Marzo de 2019]. Disponible en: <http://bvs.minsa.gob.pe/local/minsa/2665.PDF>
69. Gregor J. Devine, Dominique Eza, Elena Ogusuku, Michael J. Furlong. USO DE INSECTICIDAS: CONTEXTO Y CONSECUENCIAS ECOLÓGICAS. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica. 2008 Ene/Mar. [Accesado el 15 May 2019]; 25 (1) Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342008000100011
70. Aniceto Juan Sánchez Raya. MESA REDONDA: SANIDAD AMBIENTAL PLAGUICIDAS Y FITOSANITARIOS. 2002. Granada. [Accesado el 15 May 2019] Disponible en: <https://www.portalfarma.com/Profesionales/jornadasycongresos/informacion/Documents/2.3Sanidad%20Ambiental.%20Plaguicidas.pdf>
71. Plaguicidas.Info [Home page en Internet] Bogotá: La protección de cultivos en la historia. [Consultado 15 May 2019]. Disponible en: <https://plaguicidas.info/la-proteccion-cultivos-la-historia/>
72. Naciones Unidas. Objetivos de Desarrollo Sostenible. Objetivos. Objetivo 2: Poner fin al hambre, lograr la seguridad alimentaria y la mejora de la

nutrición y promover la agricultura sostenible. [Consultado: 20May2019]
Disponible en:
<https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/hunger/>

73. Angulo V, Cáceres L, Fortuny A, Molina de Fermnández D, Moncayo A, Picollo M, et al. Monitoreo de la resistencia a insecticidas en Triatominos en América Latina. Red Latinoamericana de Triatominos. [Consultado 31 May 2019]. Disponible en:
<https://www.mundosano.org/download/bibliografia/Monografia%201.pdf>
74. Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos. (OECD) Guidelines for Testing Chemicals: Honey bee (*Apis mellifera*) larval toxicity test, single exposure, versión del 14 de noviembre de 2012. [Consultado 31 May 2019]. Disponible en:
http://www.oecd.org/env/ehs/testing/Honeybee%20larval%20toxicity%20single%20exposure_draft_Nov2012.pdf
75. Vázquez A. Phytochemistry of *Tagetes minuta* L. (Asteraceae) from Córdoba, Argentina: Comparative study between essential oil and HS-SPME analyses. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. Vol 10(4). 2011. Pp. 351 – 362.
76. Akash V. A review on phytochemistry and pharmacological activity of *Lantana camara* linn. International journal of pharmaceutical sciences and research. Vol 9(9:1). 2018, Ene. pp. 37 – 43. [Accesado el 02 Jul 2019]. Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/322208240_A_REVIEW_ON_PHYTOCHEMISTRY_AND_PHARMACOLOGICAL_ACTIVITY_OF_LANTANA
77. Iannacone J., Lamas G. Efecto insecticida de cuatro extractos botánicos y del cartap sobre la polilla de la papa *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae), en el Perú. Entomotropica Vol. 18(2). 2003. Ago. pp. 95-105. [Accesado el 02 Jul 2019]. Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/313191447_Efecto_insecticida_

de_cuatro_extractos_botanicos_y_del_cartap_sobre_la_polilla_de_la_papa_Phthorimaea_operculella_Zeller_Lepidoptera_Gelechiidae_en_el_Peru

78. Gakuubi M. Bioactive properties of *Tagetes minuta* L. (Asteraceae) essential oils: A review. American Journal of Essential Oils and Natural Products. Vol 4(2). 2016. Pp. 27-36.
79. Giarratana F. Activity of *Tagetes minuta* Linnaeus (Asteraceae) essential oil against L3 *Anisakis* larvae type 1. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. Vol10. Núm5. 2017, May. pp 461-465. [Accesado el 02 Jul 2019]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1995764516306034>
80. Oluah N., Ezeabakwa O. Evaluation of Larvicidal Activity of Leaf Extract of *Lantana camara* (Family: Verbenaceae) Against the *Aedes aegypti* Mosquito. Bio-Research Vol 9. Num2. 2012. pp. 768 – 774. [Accesado el 02 Jul 2019]. Disponible en: <https://www.ajol.info/index.php/br/article/view/98408>

IX. ANEXOS

CONSTANCIA

LA SUSCRITA, BIÓLOGA ENTOMÓLOGA AÍDA ESTHER CARBAJAL VILLAVERDE, DOCENTE PRINCIPAL D.E., FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS, UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO- LA LIBERTAD, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra biológica recibida de CYNTHIA DEL CARMEN BARRANTES ARRIOLA, estudiante de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela de Toxicología de la Universidad Mayor de San Marcos, ha sido determinada como *Spodoptera frugiperda* Smith & Abbott y tiene la siguiente posición taxonómica:

PHYLLUM: ARTHROPODA

CLASE: INSECTA

SUB CLASE: PTERYGOTA

ORDEN: LEPIDOPTERA

SUB ORDEN: FRENATAE

FAMILIA: NOCTUIDAE

GÉNERO: SPODOPTERA

ESPECIE: *Spodoptera frugiperda* Smith & Abbott.

Nombre común: "cogollero"

Determinado por: Ms. C. Aída Esther Carbajal Villaverde.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines que estime conveniente.

Trujillo 14 de noviembre, 2017


Ms. C. Aída Esther Carbajal Villaverde
C.B.P. 1219 C.R. IV
Profesora Principal de la Facultad de Ciencias Biológicas
UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO



"Año del Buen Servicio al Ciudadano"

CONSTANCIA N° 122-USM-2017

LA JEFA (E) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (planta completa) recibida de **Cinthy BARRANTES ARRIOLA**; alumna de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos; ha sido estudiada y clasificada como: ***Tagetes minuta* L.** y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: ASTERIDAE

ORDEN: ASTERALES

FAMILIA: ASTERACEAE

GENERO: *Tagetes*

ESPECIE: *Tagetes minuta* L.

Nombre vulgar: "huacatay"

Determinado por: Mg. Hamilton Beltrán Santiago

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime pertinente.

Lima, 04 de julio de 2017.



Dra. Monica Arakaki Makishi

Jefa (a) del Herbario San Marcos (USM)

MAM/ddb



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año del Buen Servicio al Ciudadano"

CONSTANCIA N°121-USM-2017

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (tallo con hojas) recibida de Cinthya Del Carmen, BARRANTES ARRIOLA, estudiante de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela de Toxicología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos; ha sido estudiada y clasificada como: *Lantana camara* L. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: ASTERIDAE

ORDEN: LAMIALES

FAMILIA: VERBENACEAE

GENERO: *Lantana*


ESPECIE: *Lantana camara* L.

Nombre vulgar: "lantana"

Determinado por: Mg. María Isabel La Torre A.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines que estime conveniente.

Lima, 27 de junio de 2017


Mg. ASUNCIÓN CANO ECHEVARRÍA
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)



ACE/ddb

Recolección del material biológico

Colecta en campo: Imagen A



Colecta en campo: Imagen B



Figura 15. Recolección de *Spodoptera frugiperda* en campo. (Imagen A e Imagen B)

Crianza de *Spodoptera frugiperda*



Figura 16. Larva *Spodoptera frugiperda* estadio 6 o pre pupa.



Figura 17. *Spodoptera frugiperda* estadio pupa, aisladas en vasos descartables.



Figura 19. Nidos para *Spodoptera frugiperda* estadio adulto.



Figura 18. *Spodoptera frugiperda* estadio adulto.



Figura 20. Posturas de *Spodoptera frugiperda* puestas en los nidos.



Figura 21. Posturas de *Spodoptera frugiperda*.



Figura 22. Larvas de *Spodoptera frugiperda* estadio 2.



Figura 23. Larvas de *Spodoptera frugiperda* estadio 1.



Figura 24. Crianza de *Spodoptera frugiperda* en diferentes estadios.

Dieta Natural: Germinado de Maíz



Figura 25. Almacigo, como dieta para larvas *Spodoptera frugiperda*.

Estabilización de la muestra



Figura 26. Muestra de *Tagetes minuta* "Huacatay".



Figura 27. Muestra de *Lantana camara* "Lantana".

Preparación de los extractos etanólico secos de *Tagetes minuta* y *Lantana camara*



Figura 28. Muestra de extractos etanólicos macerados de *Tagetes minuta* y *Lantana camara*.



Figura 29. Filtrado de extracto etanólico de *Tagetes minuta*.



Figura 30. Filtrado de extracto etanólico de *Lantana camara*.



Figura 31. Extracto etanólico seco de *Lantana camara* y *Tagetes minuta*.



Figura 32. Muestras secas de los extractos etanólicos en estufa.

Tamizaje fitoquímico



Figura 33. Ensayo de Shinoda

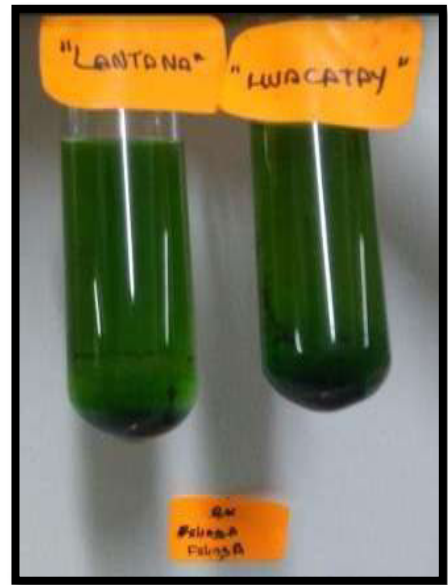


Figura 34. Ensayo de Fehling.

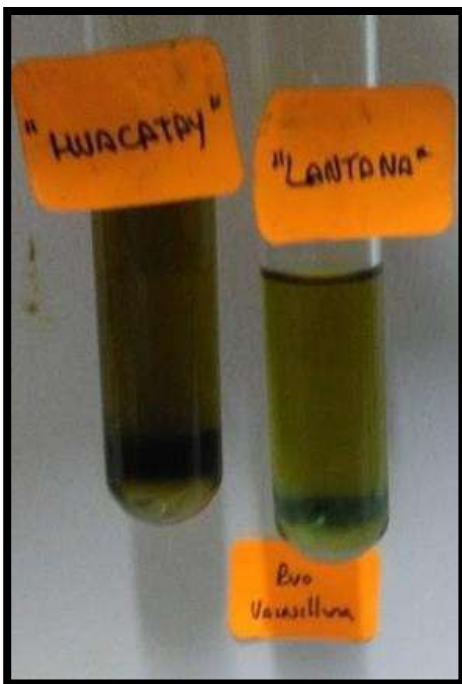


Figura 35. Ensayo de Vainillina



Figura 36. Ensayo de Rosenheim.



Figura 37. Ensayo de Lieberman - Burchardat.



Figura 38. Ensayo de Dragendorff.



Figura 39. Ensayo de Antrona



Figura 40. Ensayo de Ninhidrina

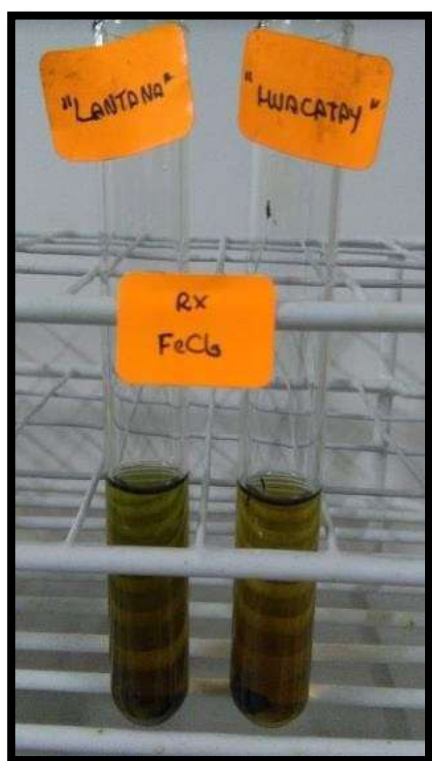


Figura 41. Ensayo de FeCl_3 .



Figura 42. Ensayo de Molish.

Aplicación de los extractos etanólicos de *Lantana camara* y *Tagetes minuta*, sobre *Spodoptera frugiperda*.



IMAGEN A



IMAGEN B

Figura 43. Aplicación de extractos etanólicos (Imagen A e imagen B).

Tabla 23. Límites de confianza para el extracto etanólico seco de *Tagetes minuta*

Límites de confianza							
	Probabilidad	95% de límites de confianza para Dosis			95% de límites de confianza para logaritmo (Dosis) ^a		
		Estimación	Límite inferior	Límite superior	Estimación	Límite inferior	Límite superior
PROBIT	,010	5,708	4,672	6,257	,756	,670	,796
	,020	5,883	4,905	6,398	,770	,691	,806
	,030	5,997	5,058	6,490	,778	,704	,812
	,040	6,084	5,177	6,561	,784	,714	,817
	,050	6,156	5,275	6,618	,789	,722	,821
	,060	6,217	5,360	6,668	,794	,729	,824
	,070	6,272	5,435	6,713	,797	,735	,827
	,080	6,322	5,503	6,752	,801	,741	,829
	,090	6,367	5,566	6,789	,804	,746	,832
	,100	6,409	5,625	6,823	,807	,750	,834
	,150	6,585	5,872	6,967	,819	,769	,843
	,200	6,729	6,074	7,085	,828	,783	,850
	,250	6,855	6,252	7,190	,836	,796	,857
	,300	6,970	6,414	7,288	,843	,807	,863
	,350	7,078	6,566	7,382	,850	,817	,868
	,400	7,183	6,711	7,475	,856	,827	,874
	,450	7,285	6,851	7,570	,862	,836	,879
	,500	7,387	6,989	7,668	,868	,844	,885
	,550	7,491	7,125	7,772	,875	,853	,891
	,600	7,598	7,259	7,885	,881	,861	,897
	,650	7,710	7,394	8,012	,887	,869	,904
	,700	7,829	7,530	8,158	,894	,877	,912
	,750	7,961	7,670	8,329	,901	,885	,921
	,800	8,110	7,816	8,537	,909	,893	,931
	,850	8,287	7,977	8,800	,918	,902	,944
	,900	8,515	8,170	9,159	,930	,912	,962
	,910	8,571	8,215	9,250	,933	,915	,966
	,920	8,632	8,264	9,350	,936	,917	,971
	,930	8,700	8,318	9,463	,940	,920	,976
	,940	8,777	8,377	9,591	,943	,923	,982
	,950	8,865	8,445	9,740	,948	,927	,989
	,960	8,970	8,524	9,919	,953	,931	,996
	,970	9,100	8,621	10,146	,959	,936	1,006
	,980	9,276	8,750	10,457	,967	,942	1,019
	,990	9,561	8,954	10,971	,980	,952	1,040

a. Base de logaritmo = 10.

Tabla 24. Límites de confianza para el extracto etanólico seco de *Lantana camara*

Límites de confianza							
	Probabilidad	95% de límites de confianza para Dosis			95% de límites de confianza para logaritmo (Dosis) ^a		
		Estimación	Límite inferior	Límite superior	Estimación	Límite inferior	Límite superior
PROBIT	,010	3,509	,022	6,234	,545	-1,663	,795
	,020	3,945	,039	6,670	,596	-1,404	,824
	,030	4,249	,058	6,965	,628	-1,240	,843
	,040	4,494	,077	7,197	,653	-1,116	,857
	,050	4,703	,096	7,392	,672	-1,016	,869
	,060	4,888	,117	7,563	,689	-,931	,879
	,070	5,057	,139	7,718	,704	-,856	,887
	,080	5,213	,163	7,859	,717	-,789	,895
	,090	5,359	,187	7,991	,729	-,728	,903
	,100	5,497	,213	8,115	,740	-,672	,909
	,150	6,107	,362	8,657	,786	-,441	,937
	,200	6,641	,552	9,128	,822	-,258	,960
	,250	7,135	,791	9,567	,853	-,102	,981
	,300	7,610	1,092	9,997	,881	,038	1,000
	,350	8,079	1,467	10,435	,907	,167	1,018
	,400	8,550	1,938	10,899	,932	,287	1,037
	,450	9,032	2,526	11,409	,956	,402	1,057
	,500	9,533	3,261	12,000	,979	,513	1,079
	,550	10,062	4,176	12,728	1,003	,621	1,105
	,600	10,629	5,294	13,701	1,026	,724	1,137
	,650	11,249	6,610	15,133	1,051	,820	1,180
	,700	11,942	8,040	17,457	1,077	,905	1,242
	,750	12,737	9,429	21,455	1,105	,974	1,332
	,800	13,685	10,674	28,474	1,136	1,028	1,454
	,850	14,880	11,817	41,334	1,173	1,073	1,616
	,900	16,532	13,013	68,184	1,218	1,114	1,834
	,910	16,958	13,282	77,168	1,229	1,123	1,887
	,920	17,433	13,568	88,347	1,241	1,133	1,946
	,930	17,971	13,879	102,604	1,255	1,142	2,011
	,940	18,591	14,222	121,365	1,269	1,153	2,084
	,950	19,325	14,611	147,114	1,286	1,165	2,168
	,960	20,224	15,067	184,607	1,306	1,178	2,266
	,970	21,386	15,629	244,309	1,330	1,194	2,388
	,980	23,036	16,386	355,080	1,362	1,214	2,550
	,990	25,898	17,614	641,607	1,413	1,246	2,807

a. Base de logaritmo = 10.